АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXIII. ВЫП. 1

ЯНВАРЬ — ФЕВРАЛЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1954

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
10 MAY 1954

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров,
В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ» ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, УЛ. КУЙБЫШЕВА, 8 КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Подсосенский пер., 21, Издательство Академии наук СССР, редакция журнала «Микробиология»

АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXIII

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1954

ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОФЛОРЫ НЕФТЕНОСНЫХ МЕСТОРОЖДЕНИЙ ВТОРОГО БАКУ

В. А. Экзерцев и *С. И. Кузнецов*

Изучение микроорганизмов нефтяных и газовых месторождений Второго Баку представляет огромный теоретический и практический интерес. В результате исследований предыдущих лет была дана микробиологическая характеристика пластовым водам, нефтям и породам различного геологического возраста месторождений Саратова, Бугуруслана, Донской луки и Арчеды (Кузнецов [1]; Штурм [2, 3, 4]; Экзерцев [5]). Показана значительная заселенность пластовых вод и осадочных пород из нефтеносных горизонтов микроорганизмами. Получены материалы, указывающие на возможность современного образования метана за счет восстановления углекислоты водородом.

В задачу настоящей работы входило: 1) дать микробиологическую характеристику некоторым месторождениям Куйбышевской и Саратовской областей; 2) провести лабораторные исследования по вопросу о возможности образования метана за счет восстановления углекислоты водородом в присутствии керна и за счет разрушения нефти микроорганизмами в анаэробных условиях.

Материал для микробиологических исследований собран нами в течение лета 1950 г., когда мы участвовали в Поволжской экспедиции Института нефти Академии наук СССР, возглавляемой Федоровым.

По ряду нефтеносных месторождений в районе Второго Баку были отобраны и проанализированы образцы нефтей, пластовой воды и кернов из различных стратиграфических горизонтов пермских отложений, каменноугольной системы и девона.

Методика

Нефть и пластовая вода отбирались в стерильную посуду. На промысловых скважинах это производилось непосредственно из контрольного крана после промывки его струей нефти. На разведывательных или бурящихся скважинах, как, например, в Пугачеве и Боровке, пробы отбирались из желонки. Образцы кернов отбирались по возможности в свежем состоянии непосредственно на скважине или же из кернохранилища.

Керновый материал отбирался таким образом, чтобы, с одной стороны, получить образцы пород, пропитанных нефтью, а с другой стороны,— образцы пород, непосредственно подстилающих или покрывающих нефтеносный пласт.

Для микробиологического анализа керна с торцовой стороны его асептически откалывалась пластинка толщиной около 5 мм, а затем керн зажимался в тиски, и из середины его при помощи электродрели высверливалась порода в виде тонкого порошка. Раздробленный таким образом керн асептически собирался в стерильную пробирку и в дальнейшем поступал на анализ.

В связи с вопросом образования горючих газов производился учет бактерий, образующих метан за счет восстановления углекислоты водородом и при разрушении жирных кислот на среде Баркера. Затем учитывались микроорганизмы, разрушающие клетчатку на среде Омелян-

ского, десульфурирующие бактерии на среде Таусона, окисляющие водород на среде Казерера, и бактерии, разлагающие углеводы на среде с глюкозой. Посевы образцов нефтей, пластовой воды и кернов производились в небольшие пробирки, куда предварительно, до стерилизации, был внесен волокнистый асбест. Пробирки заливались доверху агаризованной питательной средой и закупоривались стерильными резиновыми пробками.

Определение наличия процесса восстановления углекислоты водородом в присутствии керна проводилось путем внесения 0,2—0,3 г раздробленного керна в трубку Дунбара, в запаянное колено которой вводилась газовая смесь, состоящая из одной части углекислоты и четырех частей водорода. Газ замыкался стерильной водой. По сокращению объема газовой смеси мы судили о наличии процесса восстановления углекислоты водородом. Контролем служили трубки без керна.

Рисунок 1. Схема постановки опытов по анаэробному распаду нефти

Распад нефти до газообразных продуктов исследовался двумя приемами. В первом случае 1 мл нефти вводился в небольшую пробирку и заливался минеральной средой Баркера (NH_4Cl — 0,1%; $MgSO_4$ — 0,02%; K_2HPO_4 — 0,04%; агар-агар — 0,75%). Для создания анаэробных условий в питательную среду добавлялся сульфид натрия из расчета на 100 мл среды 3 мл 1%-ного раствора Na_2S на 5%-ной безводной соде. Пробирка закупоривалась стерильной резиновой пробкой. Появление пузырьков газа в агаре за период инкубации в течение 6 месяцев при 28° указывало на наличие процесса распада нефти с образованием газа. Второй прием заключался в том, что нефть наливалась в небольшую стерильную пробирку и тщательно перемешивалась там с дробленым керном. При помощи вакуумной установки из нефти удалялся растворенный газ. Затем в пробирку добавлялась стерильная среда в виде раствора 0,1%-ного фосфорнокислого аммония и 0,1%-ного сернокислого магния на дистиллированной воде. Пробирка закупоривалась резиновой пробкой и в перевернутом состоянии опускалась в большую пробирку, предварительно заполненную тем же минеральным раствором, который служил в данном случае в качестве водяного запора. Схема постановки опытов приводится на рисунке. Газ, образовавшийся при разрушении нефти, скапливался здесь же, в первой пробирке.

Аналитический материал

Все собранные нами образцы нефти, пластовых вод и кернов были посеяны на питательные среды для определения наличия физиологических групп бактерий, разрушающих органическое вещество с образованием метана и восстанавливающих сульфаты. Затем были поставлены опыты по восстановлению углекислоты водородом в присутствии дробленого керна и опыты по разрушению нефти в анаэробных условиях. Результаты микробиологических анализов представлены в приводимых ниже четырех таблицах, причем знаком плюс мы обозначили присутствие той или другой группы микроорганизмов, а знаком минус ее отсутствие.

Как видно из табл. 1, в образцах нефти, отобранных в районе Саратова из отложений пашийской свиты, были обнаружены бактерии, способные в анаэробных условиях образовывать газ на питательных средах с глюкозой и с клетчаткой. В образцах нефти, полученных из живетского

Таблица 1

Микробиологическая характеристика нефтей и пластовых вод, отобранных в районе Саратова, Пугачева и Самарской луки

№ образца	Характеристика образца	Стратиграфия	Микроорганизмы					Разрушение нефти	
			десульфурирующие	Methanobact. Omelianskii	разрушающие жирные кислоты	разлагающие глюкозу	разрушающие клетчатку	на агаризованной среде Баркера	на жидкой синтетической среде
		Соколовая гора							
1	Нефть безводная	Девон. Пашийская свита	—	—	—	—	+	+	+
4	То же	То же	—	—	—	+	+	+	+
5	„ „	„ „	—	—	—	+	+	—	—
3	„ „	Девон. Живетский ярус	—	+	+	+	+	+	—
2	„ „	То же	—	—	+	—	+	+	+
		Пугачев							
6	Пластовая вода с газом	Карбон. Верейский гориз.	—	—	+	+	—		
7	То же	То же	+	—	—	+	—		
		Сызрань							
8	Нефть безводная	Карбон. Угленосная свита $Б_2$	+	—	+	+	+	—	—
9	То же	То же	+	+	+	+	+	—	—
10	Нефть обводненная	Карбон. Угленосная свита $Б_0$, $Б_2$	+	+	+	+	+	—	—
11	То же	Карбон. Угленосная свита $Б_1$	+	—	+	+	+	+	+
12	„ „	То же	+	+	+	+	+	+	+
13	„ „	„ „	—	—	—	—	—	—	—
		Березовка							
14	Нефть безводная	Карбон. Угленосная свита $Б_0$	—	—	—	—	—	+	—
15	То же	То же	—	+	—	+	+	—	+
16	„ „	Карбон. Угленосная свита $Б_2$	—	+	—	—	+	—	+
17	„ „	То же	—	—	+	—	+	+	+
		Карлово-Сытовка							
18	Нефть безводная	Карбон. Угленосная свита $Б_2$	—	+	—	+	+	—	—
19	То же	То же	—	—	—	—	+	+	+
20	„ „	„ „	—	+	+	—	+	+	+
		Губино							
21	Нефть безводная	Карбон. Угленосная свита $Б_2$	+	+	—	—	+	—	—
22	То же	То же	+	+	+	—	—	—	+
23	„ „	„ „	+	+	+	+	+	+	—
		Зольный овраг							
24	Нефть безводная	Карбон. Угленосная свита $Б_2$	—	—	+	—	+	+	+
25	То же	То же	—	+	—	+	+	+	+
27	Нефть обводненная	Девон $Д_1$	—	+	+	—	—	+	+
28	Нефть безводная	Девон $Д_1$	—	—	+	+	—	+	—
26	Нефть обводненная	Девон $Д_2$	—	+	+	+	+	+	+

Таблица 1 (продолжени)

№ образца	Характеристика образца	Стратиграфия	Микроорганизмы					Разрушение нефти	
			десульфурирующие	Methanobact. Omelianskii	разрушающие жирные кислоты	разлагающие глюкозу	разрушающие клетчатку	на агаризованной среде Баркера	на жидкой синтетической среде
		Яблоновый овраг							
33	Нефть безводная . .	Карбон. Угленосная свита $Б_0$	—	—	+	+	—	—	—
30	Нефть обводненная .	Карбон. Угленосная свита $Б_2$	—	—	—	—	—	—	—
29	То же	Девон $Д_1$	—	—	—	—	—	—	—
31	Нефть безводная . .	Девон $Д_2$	—	—	+	+	—	+	+
32	Нефть обводненная	Девон $Д_3$	—	—	—	—	—	—	—

яруса, были обнаружены бактерии, разрушающие жирные кислоты с образованием метана, и бактерии типа Methanobacterium Omelianskii, образующие метан из водорода и углекислоты. Здесь же были выявлены бактерии, разрушающие углеводы. Разрушение самой нефти с выделением газообразных продуктов было отмечено как в опытах на агаризованной среде Баркера, так и в опытах, когда нефть в смеси с минеральным раствором и дробленым керном заключалась в перевернутые пробирки. Девонская нефть, отобранная из месторождения Соколовой горы, будучи смешана с керном из угленосной свиты той же геологической структуры или с девонским керном из Зольного оврага, показала наличие процесса распада нефти с образованием газа. Правда, процесс этот шел очень медленно.

В пластовой воде из газоносного верейского горизонта Пугачевского месторождения были встречены бактерии, восстанавливающие сульфаты. В двух случаях они были обнаружены в керновом материале, а именно в нефтеносном песчанике верейского горизонта и в нефтеносном песчанике угленосной свиты. Бактерии, способные образовывать газ за счет разрушения клетчатки, были обнаружены в одном образце из верейского горизонта и в ряде кернов из продуктивной толщи угленосной свиты. В двух образцах были обнаружены бактерии, разлагающие глюкозу с выделением газообразных продуктов. В породах из каширского горизонта и угленосной свиты найдены водородокисляющие бактерии. Микроорганизмы, способные образовывать метан из водорода и углекислоты, обнаружены лишь в одном образце нефтесносных песчаников из угленосной свиты.

Из табл. 1 видно, что нефти из скважин Сызранского промысла по сравнению с другими нефтями содержат значительно большее количество бактерий. Характерной чертой этих нефтей является наличие в них бактерий, восстанавливающих сульфаты. Последние были в дальнейшем встречены лишь в нефтях из Губинской нефтеносной структуры и в пермских нефтях из Калиновки.

В некоторых образцах этого месторождения отмечался процесс распада нефти до газообразных продуктов. В нефтеносных песчаниках активными оказались бактерии, способные образовывать метан из жирных кислот, а также из водорода и углекислоты, хотя в опытах, где над керном была помещена смесь углекислоты и водорода, этот процесс не шел. Распределение бактерий в породах локализовано в продуктивных горизонтах.

Таблица 2

Микробиологическая характеристика кернового материала, отобранного в районе Пугачева и Самарской луки

№ образца	Литологическая характеристика образца	Стратиграфия	Микроорганизмы							Сокращение объема газовой смеси над керном в %
			десульфурирующие	Methanobact. Omelianskii	разрушающие жирные кислоты	разрушающие нефть	разлагающие глюкозу	разрушающие клетчатку	водородокисляющие	
		Пугачев								
14	Глина известковистая	Карбон. Каширск. гориз.	—	—	—	—	—	—	+	13
1	Глина покрывающая	Карбон. Верейский гориз.	—	—	—	—	—	—	—	—
2	Нефтеносный песчаник	То же	+	—	—	—	+	+	—	—
3	Глина подстилающая	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—
4	Оолитовый известняк	Карбон. Намюрский ярус	—	—	—	—	—	—	—	—
5	Известняк	То же	—	—	—	—	—	—	—	—
6	Глина известковистая	Карбон. Угленосная свита	—	—	—	—	—	—	+	—
7	Нефтеносный песчаник	То же	—	—	—	—	+	—	—	—
8	Глина черная . .	„ „	—	—	—	—	—	+	—	—
9	Нефтеносный песчаник	„ „	—	—	—	—	—	+	—	—
10	Известняк . . .	„ „	—	—	—	—	—	—	+	—
11	Глина серая . . .	„ „	—	—	—	—	—	+	+	—
12	Нефтеносный известняк	„ „	—	—	—	—	—	—	+	—
13	Глина серая . . .	„ „	—	—	—	—	—	+	—	—
15	Глина серая, покрывающая . .	Карбон. Верейск. гориз.	—	—	—	—	—	—	—	—
16	Глина черная . .	Карбон. Угленос. свита	—	—	—	—	—	—	—	—
17	Нефтеносный песчаник	То же	+	+	—	+	—	+	—	—
		Сызрань								
18	Глина песчанистая	Карбон. Угленосная свита $Б_2$	+	—	—	—	—	+	—	—
19	Нефтеносный песчаник	То же	+	+	+	—	—	+	—	—
20	Глина серая, подстилающая . .	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—
21	Глина серая . . .	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—
22	Нефтеносный песчаник	„ „	+	+	+	+	+	—	+	—
23	Известняк подстилающий . . .	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—
		Березовка								
24	Глина серая, покрывающая . .	Карбон. Угленосная свита $Б_2$	—	—	—	—	—	—	+	—
25	Нефтеносный песчаник	То же	+	—	—	+	—	—	—	—
26	Песчаник подстилающий . . .	„ „	—	—	—	—	—	—	+	4

Таблица 2 (продолжение)

№ образца	Литологическая характеристика образца	Стратиграфия	Микроорганизмы							Сокращение объема газовой смеси над керном в %
			десульфурирующие	Methanobact. Omelianskii	разрушающие жирные кислоты	разрушающие нефть	разлагающие глюкозу	разрушающие клетчатку	водородокисляющие	
		Карлово-Сытовка								
29	Известняк	Карбон. Верейск. гориз.	—	—	—	—	—	—	—	—
27	Глина серая . . .	Карбон. Угленосная								
28	Нефтеносный песчаник	свита	—	—	—	—	—	—	—	6
		То же	+	—	+	—	+	+	—	—
30	Глина черная . .	Девон	—	—	—	—	—	—	+	—
		Зольный овраг								
33	Нефтеносный песчаник	Карбон. Верейск. гориз.	+	—	—	—	+	—	—	—
34	Глина серая . .	То же	—	—	—	—	+	+	—	—
35	Нефтеносный песчаник	Карбон. Угленосная свита $Б_2$	—	—	—	—	+	+	—	10
36	Глина черная, подстилающая . .	То же	—	+	—	—	—	+	—	5
39	Нефтеносный песчаник	Девон	—	—	—	—	+	+	—	8
37	То же	То же	—	—	—	—	+	—	—	—
38	Глина серая, подстилающая . .	„ „	—	—	—	+	—	—	—	4
40	Нефтеносный песчаник	„ „	—	—	+	—	+	—	—	3

В образцах нефтей Березовской геологической структуры были учтены бактерии, способные образовывать метан из углекислоты и водорода, а также бактерии, разрушающие в анаэробных условиях жирные кислоты, глюкозу и клетчатку. Десульфурирующие бактерии не обнаружены. Отмечен анаэробный распад нефти до газообразных продуктов. Как видно из табл. 2, микробиологическому анализу были подвергнуты три образца керна. В породах, подстилающих или покрывающих нефтеносный пласт, были обнаружены только водородокисляющие бактерии, а в нефтеносном песчанике выявлены в достаточно активном состоянии сульфатвосстанавливающие бактерии и организмы, разрушающие нефть.

Переходя к описанию микрофлоры Карлово-Сытовского месторождения, мы должны заметить, что по своему характеру нефти этого и соседнего промысла — Березовки — более легкие, чем в Сызрани и Губине. Структура только что разбурена. Обсемененность бактериями нефтей из этого промысла несколько ниже, чем из Губина, тем не менее и здесь обнаружены бактерии, разрушающие жирные кислоты и клетчатку, бактерии, разлагающие глюкозу, а также Methanobacterium Omelianskii. Сульфатвосстанавливающие бактерии в этих нефтях обнаружены не были. Разрушение нефти с образованием газа шло на агаризованной среде Баркера и на жидкой минеральной среде. В керновом материале были обнаружены десульфурирующие бактерии типа Vibrio Rubentshiki и бактерии, разрушающие жирные кислоты, глюкозу и клетчатку с образованием газа. Эти организмы были сосредоточены в нефтеносном песчанике из угленосной свиты. В образце черной глины из девона были встречены бактерии, окисляющие водород.

Таблица 3

Микробиологическая характеристика нефтей, отобранных в районе Сергиевска, Муханова и Покровки

№ образца	Характеристика образца	Стратиграфия	Микроорганизмы					Разрушение нефти	
			десульфурирующие	Methanobact. Omelianskii	разрушающие жирные кислоты	разлагающие глюкозу	разрушающие клетчатку	на агаризованной среде Баркера	на жидкой синтетической среде
		Боровка							
34	Нефть безводная	Карбон. Угленосная свита	—	+	+	—	+	+	+
35	То же	То же	—	—	+	—	+	—	—
		Радаевка							
36	Нефть безводная	Карбон. Угленосная свита, верхний пласт	—	—	+	—	+	—	+
37	То же	То же	—	—	—	—	—	—	+
		Калиновка							
38	Нефть обводненная	Пермь. Калиновская свита	+	+	+	+	—	+	—
39	То же	То же	+	+	—	+	+	+	+
		Яблоновка							
41	Нефть безводная	Пермь. Кунгурский ярус, I пласт	—	+	+	+	—	—	—
40	То же	Пермь. Кунгурский ярус, II пласт	—	—	—	+	+	—	—
		Черновка							
42	Нефть безводная	Пермь. Кунгурский ярус, I пласт	—	—	—	—	+	—	—
43	То же	То же	—	+	—	—	—	—	—
		Муханово							
44	Нефть обводненная	Пермь. Кунгурский ярус	—	+	+	—	+	—	—
45	То же	То же	—	+	+	+	—	+	+
46	„ „	„ „	—	+	+	—	—	+	+
		Покровка							
47	Нефть безводная	Карбон. Намюрский ярус	—	—	—	—	—	+	+
49	То же	То же	—	+	+	—	—	+	+
48	„ „	Карбон. Угленосная свита	—	—	+	—	—	—	—
50	„ „	То же	—	—	—	—	+	+	+

По характеру залегания и по своим свойствам нефти Губинского месторождения приближаются к нефтям Сызранской структуры. Они оказались сходными и по составу микрофлоры. В нефти этого промысла обнаружены все интересующие нас группы микроорганизмов. Процесс распада нефти в анаэробных условиях здесь шел медленно. Последнее хорошо согласуется с небольшим газовым фактором [1] нефтей этой структуры.

[1] Газовый фактор — количество газа, растворенного в 1 т нефти при данном пластовом давлении.

Зольный овраг был последним из обследованных нами месторождений, приуроченных к оси жигулевской дислокации. Здесь были вскрыты в верейском горизонте, в угленосной свите и в девоне нефтеносные пласты. Одной из характерных особенностей нефтей этой структуры является то, что они содержат все группы изучаемых нами микроорганизмов за исключением бактерий, восстанавливающих сульфаты. Здесь активно шел распад нефти до газообразных продуктов. Это хорошо совпадает с высоким газовым фактором этих нефтей. Изучение микрофлоры пород из верейского горизонта показало наличие бактерий, способных разрушать глюкозу и клетчатку с образованием газа. В образцах из угленосной свиты были найдены бактерии типа Methanobacterium Omelianskii, образующие метан из водорода и углекислоты. Это в значительной мере совпадает с процессом восстановления углекислоты водородом над керном, обнаруженным нами в соответствующих опытах. В нефтеносных песчаниках из девона были обнаружены бактерии, разлагающие анаэробно глюкозу, а также бактерии, разрушающие жирные кислоты.

Обращаясь к табл. 1, нетрудно заметить, что в нефти из Яблонового оврага, отобранной из горизонта $Б_2$ угленосной свиты и из первого и третьего нефтеносных пластов девона, микрофлора не обнаружена, тогда как во втором пласте девона и в угленосной свите горизонта $Б_0$ отмечалось присутствие бактерий, разрушающих глюкозу и жирные кислоты. Кроме того, в образцах из второго пласта девона наблюдалось интенсивное разрушение нефти в анаэробных условиях до газообразных продуктов.

В районе Сергиевска (табл. 3) мы обследовали Боровскую и Радаевскую геологические структуры. Нефть из Боровского месторождения очень густая и насыщена газом. В ней были обнаружены бактерии, образующие метан из водорода и углекислоты, разрушающие жирные кислоты, клетчатку и самую нефть. Бактерий, разлагающих глюкозу, не обнаружено. Десульфурирующие бактерии были обнаружены в образце алевролита, лежащего над нефтеносным песчаником из угленосной свиты, и в песчанике из девонских отложений. Бактерии, разрушающие клетчатку и образующие метан из углекислоты и водорода, обнаружены в нефтеносном песчанике из угленосной свиты. Из табл. 4 видно, что в кернах Боровской структуры микрофлора представлена очень скудно.

Нефть из Радаевской структуры чрезвычайно густая и насыщена газом. Образцы нефти этого месторождения заселены бактериями слабо. Десульфурирующие и водородокисляющие бактерии оказались строго приуроченными к нефтеносным песчаникам. В этих же образцах были обнаружены и бактерии, разрушающие углеводы. Ни в одном из образцов пород, подстилающих или покрывающих продуктивные горизонты, изучаемые нами физиологические группы бактерий обнаружены не были. Хотя нефти этого месторождения заселены бактериями незначительно, однако, будучи смешаны в асептических условиях с образцами дробленого керна, они разрушались с выделением газообразных продуктов.

Залежь Калиновской структуры относится к пермским отложениям. Она содержит очень большое количество газа. Большинство скважин дает нефть с водой. В нефтях этого месторождения были обнаружены десульфурирующие бактерии в весьма активном состоянии. Наряду с этим были выявлены бактерии, разрушающие углеводы и жирные кислоты, а также Methanobacterium Omelianskii. Интересно отметить, что нефть одной из скважин данного промысла (образ. № 38), будучи перемешена с дробленым керном, несмотря на ее большой газовый фактор, за время инкубации в течение шести месяцев не разрушалась, тогда как нефть из соседней скважины (образ. № 39) разрушалась достаточно интенсивно, образуя газ, не только в смеси с керном, но и без него, в присутствии стерильной питательной среды.

В месторождении Яблоновки продуктивными являются калиновская

Таблица 4

Микробиологическая характеристика кернового материала, отобранного в районе Сергиевска, Муханова и Покровки

№ образца	Литологическая характеристика образца	Стратиграфия	Микроорганизмы: десульфурирующие	Methanobact. Omelianskii	разрушающие жирные кислоты	разрушающие нефть	разлагающие глюкозу	разрушающие клетчатку	водородокисляющие	Сокращение объема газовой смеси над керном в %
		Радаевка								
41	Известняк покрыв.	Карбон. Угленосная								
42	Нефтеносный песчаник	свита	—	—	—	—	—	—	—	5
		То же	+	—	—	—	+	+	+	—
43	Углисто-глинистый сланец подстилающий	„ „	—	—	—	—	—	—	—	5
44	Глина серая, покрывающая	„ „	—	—	—	—	—	—	—	8
45	Нефтеносный песчаник	„ „	+	—	—	—	—	+	+	—
46	Глина черная, подстилающая	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—
		Боровка								
47	Алевролит покрывающий	Карбон. Угленосная								
48	Нефтеносный песчаник	свита	+	—	—	—	—	—	—	16
		То же	—	+	—	—	—	+	—	—
49	Алевролит подстилающий	„ „	—	—	—	—	—	—	—	15
50	Известняк	Карбон. Турнейский ярус	—	—	—	—	—	—	—	—
51	Глина серая	Девон	—	—	—	—	—	—	+	13
52	Песчаник	„ „	+	—	—	—	—	—	—	—
		Яблоновка								
53	Нефтеносный доломит	Пермь. Кунгурский ярус	—	—	—	—	—	—	—	—
54	Нефтеносный доломит	То же	—	—	—	—	—	—	—	—
		Черновка								
56	Нефтеносный доломит	Пермь. Кунгурск. ярус	—	—	—	—	—	—	—	—
57	Доломит подстилающий	То же	—	—	—	—	—	+	+	—
58	Нефтеносный доломит	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—
59	То же	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—
60	Доломит подстилающий	„ „	—	—	—	—	+	+	+	—
		Покровка								
61	Глина серая	Карбон. Верейский гориз.	—	—	—	—	—	—	+	16
62	Глина черная, покрывающая	Карбон. Угленосная свита	—	—	—	+	—	—	—	15
63	Песчаник	То же	—	—	—	—	—	—	—	12
64	Нефтеносный песчаник	„ „	+	+	+	+	+	+	—	7

Таблица 4 (продолжение)

№ образца	Литологическая характеристика образца	Стратиграфия	Микроорганизмы							Сокращение объема газовой смеси над керном в %
			десульфурирующие	Methanobact. Omelianskii	разрушающие жирные кислоты	разрушающие нефть	разлагающие глюкозу	разрушающие клетчатку	водородокисляющие	
65	Известняк . . .	Карбон. Турнейский ярус	—	—	—	—	—	+	—	—
31	Глина серая . . .	Карбон. Верейский гориз.	—	—	—	+	—	—	—	—
32	Песчаник	Карбон. Угленосная свита	—	—	—	—	—	+	—	15
		Балыкла								
55	Доломит, пропитан нефтью . . .	Намюрский ярус	—	—	—	—	—	+	—	—

свита, где имеются скопления газа, и кунгурский ярус, где сосредоточена нефть. В нефти были обнаружены бактерии, способные образовывать метан из водорода и углекислоты и из жирных кислот. Также выявлены бактерии, разрушающие клетчатку и глюкозу. Керновый материал из этого месторождения был получен в виде нефтеносного доломита, долго пролежавшего в кернохранилище. Бактерий в этом материале нам обнаружить не удалось.

Анализируя данные по Черновскому месторождению, можно заметить, что нефти этого промысла мало заселены бактериальной флорой. Здесь были обнаружены лишь бактерии, способные образовывать метан из водорода и углекислоты, и бактерии, разрушающие клетчатку. Среди кернового материала было три образца доломитов, пропитанных нефтью. Ни в одном из них мы не смогли обнаружить исследуемые нами группы бактерий. Однако в доломитах, подстилающих нефтеносный пласт, были обнаружены бактерии, разрушающие углеводы, и водородокисляющие бактерии.

В Мухановском месторождении нам удалось отобрать три образца нефти из кунгурского яруса пермских отложений. Кернового материала из этой структуры мы не имели. Нефти этого промысла гораздо богаче микрофлорой, чем нефти из Яблоновки и Черновки. Здесь были обнаружены бактерии, образующие метан из водорода и углекислоты, из жирных кислот и углеводов. Достаточно интенсивно шло разрушение нефти в анаэробных условиях на агаризованной среде Баркера и на жидкой синтетической среде.

В нефти из Покровской структуры были обнаружены бактерии, способные образовывать метан из водорода и углекислоты и разрушающие жирные кислоты с образованием этого газа.

Все образцы нефти, за исключением одного, отобранного из угленосной свиты, способны разлагаться с образованием газа в анаэробных условиях. Бактериальное население чрезвычайно тесно увязывается с нефтеносностью породы. Так, образцы № 62, 63 и 64 все из одного выема керна, однако микробное население оказалось сосредоточенным только в нефтеносном песчанике. Интересно отметить, что образцы из верейского горизонта и угленосной свиты дали наиболее сильно выраженный процесс восстановления углекислоты водородом в присутствии дробленого керна.

Обсуждение полученных результатов

Из нефтяных и газовых месторождений Второго Баку нам удалось собрать 50 образцов нефти и 65 образцов керна из различных скважин. На некоторых промыслах Куйбышевской области нефть шла вместе с водой, часто в виде тонкой эмульсии. Таким образом, данные анализов в значительной степени должны быть отнесены к нефтям, находящимся в тесном контакте с водой.

Бактерии, восстанавливающие сульфаты, были обнаружены в нефтях из угленосной свиты Сызранской и Губинской структур и в пермских нефтях из Калиновки. Вероятно, эти нефти в большом количестве содержат компоненты органического вещества, которые используются этой группой бактерий.

Бактерии, образующие метан (Methanobacterium Omelianskii), были обнаружены в образцах нефти всех обследованных нами структур за исключением Яблонового оврага и Радаевки. Также широко распространенными оказались бактерии, разрушающие жирные кислоты с выделением газообразных продуктов.

Еще шире распространенной оказалась группа бактерий, разрушающих углеводы.

Во многих образцах нефти был отмечен распад ее с образованием газа в том случае, когда она вносилась в минеральный питательный агар или помещалась в перевернутые пробирки с водяным запором, как это было описано выше. При внесении твердой породы в нефть в виде дробленого керна процесс образования газа значительно ускорялся. Однако нам не удалось установить прямой зависимости между быстротой или легкостью отделения газа из нефти и стратиграфической характеристикой внесенного керна. Это дает основание предполагать, что выделение газа из нефти, ее распад с образованием газа зависят от химического состава самой нефти.

В образцах кернов, как общее правило, исследованные нами группы бактерий в основном были приурочены к продуктивной толще.

В районе Самарской луки в некоторых образцах кернов из Сызранской и Карлово-Сытовской структур наиболее богато была представлена микрофлора, образующая газообразные продукты.

В кернах из Зольного оврага главным образом были встречены бактерии, разрушающие глюкозу и клетчатку.

Район Сергиевска в основном был отмечен наличием бактерий, восстанавливающих сульфаты. Последние были обнаружены в угленосной свите Радаевской и Боровской структур, а также в девонском песчанике Боровской структуры. Так как десульфурирующие бактерии в большинстве случаев бывают приурочены к нефтеносным горизонтам, то это дает основание более внимательно изучить девонские отложения этой структуры на нефтеносность.

В районе залегания пермских нефтей были обследованы керны из структур Яблоновки и Черновки. Они оказались чрезвычайно слабо заселенными бактериальной флорой.

Наконец, обработка кернового материала из Покровки показала очень большое разнообразие групп микроорганизмов в нефтеносном песчанике из угленосной свиты. Породы из вышележащих пластов (образцы 62 и 63) проявляли заметную способность к восстановлению углекислоты водородом над своей поверхностью, что может быть показателем локализации процессов современного образования метана.

Наряду с сульфатвосстанавливающими бактериями часто встречались организмы, образующие газ на средах с клетчаткой в качестве единственного источника углерода. В некоторых образцах отмечено наличие бактерий, способных образовывать метан из водорода и углекислоты или из жирных кислот.

Просматривая полученные данные в региональном разрезе, можно считать, что современное образование метана за счет процесса восстановления углекислоты водородом идет почти во всех исследованных нами нефтеносных месторождениях. Однако процесс этот в районе Куйбышева идет значительно слабее, чем в угленосной свите месторождений Саратова и Арчеды. В самом деле, более или менее заметное уменьшение объема газовой смеси, состоящей из углекислоты и водорода, достигающее 16%, было отмечено над образцами керна из угленосной свиты и верейского горизонта лишь из района Боровки и Покровки, в то время как по анализам из района Арчеды и Елшанки уменьшение объема газовой смеси достигло 32% и более.

Повидимому, основным процессом образования газа в залежи может быть распад нефти до газообразных продуктов. Почти все испытанные нами нефти, будучи перемешаны с керном, образуют газ над жидкой фазой.

В опытах по анаэробному распаду нефти в перевернутых пробирках был проведен газовый анализ методом сожжения в кварцевой трубке над окисью меди. В газовой смеси было обнаружено значительное количество метана, достигающее в некоторых случаях 35%.

Выводы

1. Собран и обработан материал по распространению физиологических групп бактерий, играющих определенную роль в образовании метана по ряду нефтяных месторождений в районе Второго Баку.

2. Установлено наличие в нефтях бактерий, способных образовывать газ из жирных кислот, углеводов и из самой нефти. Широко распространенными оказались бактерии типа Methanobacterium Omelianskii, образующие метан из углекислоты и водорода.

3. Показано, что заселенность бактериями глубинных пород обычно приурочена к продуктивному пласту.

4. Подтвердились наши прежние наблюдения в том, что в присутствии дробленого керна из некоторых пород продуктивной толщи происходит заметное уменьшение объема газовой смеси, состоящей из углекислоты и водорода. Это указывает на возможность образования метана в недрах земли за счет восстановления углекислоты водородом.

5. Результаты опытов дают основание предполагать, что главным источником образования газа в нефтеносных месторождениях является анаэробный распад нефти при участии микроорганизмов.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 24. IV. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кузнецов С. И. Изучение возможности современного образования метана в газонефтеносных фациях района Саратова и Бугуруслана. Микробиология, XIX, вып. 3, 1950.
2. Штурм Л. Д. Микроорганизмы нефтяных месторождений Второго Баку. Рефераты раб. учрежд. и Отделения биол. наук АН СССР за 1940 г., Изд. АН СССР, 1941.
3. Штурм Л. Д. Микроскопическое исследование нефтеносных пластовых вод. Микробиология, XIX, вып. 1, 1950.
4. Штурм Л. Д. Материалы по микробиологическому исследованию нефтеносных месторождений Второго Баку. Тр. Ин-та нефти, 3, 1950.
5. Экзерцев В. А. Микроскопические исследования бактериальной флоры в нефтеносных фациях Второго Баку. Микробиология, XX, вып. 4, 1951.

ОКИСЛЕНИЕ ЭТАНА И ПРОПАНА НЕКОТОРЫМИ ВИДАМИ МИКОБАКТЕРИЙ

Ек. Н. Бокова

I. Этаноокисляющие микроорганизмы

Этан (C_2H_6), как и другие газообразные углеводороды жирного ряда, представляет собой химически инертный газ, встречающийся в нефти, в природных газах и в подпочвенном воздухе над нефтяными месторождениями. Содержание этана в горючих природных газах достигает 11% [7], а в подпочвенном воздухе он встречается лишь в микроконцентрациях [5].

За последние годы в литературе появился ряд указаний на современное образование этана при разложении органического вещества. Так, Нив и Безуэлл (Neave a. Buswell [11] обнаружили до 12% этана при разложении сточных вод. По сообщению Кокса (Cox [9]), Цобелл (Zobell) наблюдал образование этана в болотном газе (0,9%). Цобелл [13] приводит данные о содержании этана (0,04%) в газе, образующемся при разложении осадка сточных вод, и также указывает [16] на образование этана в бактериальных культурах, подвергавшихся давлению от 200 до 600 атмосфер. Тейсен (Thaysen), по данным Цобелла [13], наблюдал образование этана при биологическом разложении керосина.

Мы не располагаем никакими сведениями относительно микроорганизмов, продуцирующих этан, и имеем лишь некоторые данные о микроорганизмах, использующих этан как единственный источник углерода.

Впервые бактерия, окисляющая этан, Bacterium hidium была выделена в 1923 г. Губиным [2] из Тамбуканской грязи на минеральной среде Бейеринка в атмосфере кислорода и этана. В этих условиях Bacterium hidium образовывала белую рыхлую пленку, на МПБ не развивалась, усваивала бензин, керосин и нефть.

Позднее Тауч и Донат (Tausz u. Donath [12]) обнаружили окисление этана бактерией, выделенной на минеральной среде в атмосфере гексана.

Материал и методика

В 1940 г. Дианową и Ворошиловой были обнаружены бактерии, окисляющие этан, в образцах грунтов из нескольких районов Советского Союза.

При посеве образцов грунта, отобранных в Бугурусланском районе, нам также удалось выделить на минеральной среде в атмосфере этана в воздухе микроорганизмы, окисляющие этан.

Для обнаружения бактерий, окисляющих этан, грунт вносился в стерильные стаканчики (типа чашек Коха) и заливался минеральной средой следующего состава: дестиллированная вода, KNO_3 — 0,1%; $MgSO_4$ — 0,02%; K_2HPO_4 — 0,08%; KH_2PO_4 — 0,02%; NaCl — 0,1%; pH = 7,2.

При пересевах в стаканчики вносился стерильный песок, так как наличие твердой фазы ускоряет развитие микроорганизмов в жидкой среде [8].

Стаканчики с посевным материалом и средой ставились под колпак на металлическую платформу с краном. Воздух из-под колпака выкачивался, и колпак наполнялся газовой смесью, состоящей из этана и воздуха в отношении 1 : 3. Колпак помещался в термостат на 10—12 дней при температуре 28—30°. Этан для опытов получался электролизом уксуснокислого натрия в кислой среде и затем очищался от углекислоты и других примесей пропусканием его через 20%-ную калийную щелочь

и кислый раствор перманганата калия. В дальнейшем культура очищалась проведением через пластинки выщелоченного агара, приготовленного на минеральной среде.

Выделение и описание микроорганизмов

При посеве на жидкую минеральную среду в атмосфере $^1/_3$ этана и $^2/_3$ воздуха на поверхности жидкости образуется гладкая, белая, с розовато-желтым оттенком пленка, которая состоит в основном из крупных толстых палочек, нередко располагающихся под углом друг к другу. На минеральном выщелоченном агаре в атмосфере этана и воздуха вырастают колонии с щетинистыми краями диаметром 1,5—2,0 мм. Односуточная чистая культура на МПБ представляет собой палочки размером 6,0—1,7 × 0,8 μ, образующие нити; часто наблюдается ветвление.

На МПА образуются круглые, слизистые, растекающиеся колонии, со временем приобретающие розовато-палевый оттенок. На желатине вырастают колонии красно-палевого цвета. На МПБ образуется кольцо и красный осадок.

Выделенные микроорганизмы грамположительны, желатину разжижают, индола не образуют, крахмал гидролизуют, сахарозу сбраживают, жиров (подсолнечное масло) и клетчатки не разлагают. На картофеле образуют обильный красный налет. Солей лимонной кислоты не используют. Соли бензойной кислоты усваивают, устойчивы к высыханию, нитраты восстанавливают. Славнина [4] обнаружила у исследуемого организма каталазу. При пересеве микроорганизмов, окисляющих этан, с МПА и картофеля в минеральную среду в атмосфере этана и воздуха снова наблюдается их интенсивное развитие.

По вышеописанным признакам выделенный микроорганизм следует сблизить с Mycobacterium perrugosum, но по своим свойствам — способности окислять этан, восстанавливать нитраты и гидролизовать крахмал он отличается от типичного представителя вида, вследствие чего мы выделяем описываемый организм в отдельную разновидность — Mycobacterium perrugosum var. ethanicum Bokova.

На способность Mycobacterium perrugosum воздействовать на углеводороды имеется ряд указаний, сведенных в работе Цобелла [13].

Отношение Mycobacterium perrugosum var. ethanicum к различным углеводородам, окиси углерода и водороду

Были исследованы следующие углеводороды: метан, этан, пропан, бутан, пентан, гексан, гептан, парафин, бензол, нафталин, а также фталевая и бензойная кислоты, окись углерода и водород.

В опытах применялась минеральная среда вышеуказанного состава с добавлением стерильного кварцевого песка. В тех случаях, когда испытывались газообразные углеводороды, они вводились под колокол в смеси с воздухом в отношении 1 : 3. В опытах с жидкими углеводородами стаканчик с испытуемым углеводородом в количестве 0,5—1,0 мл ставился под колокол; при испарении под колоколом создавалась атмосфера паров жидкого углеводорода. Нафталин вносился в среду в размельченном виде, парафин — в виде стружек. Натриевые соли фталиевой и бензойной кислот добавлялись к минеральной среде в количестве 2%. Инкубация велась при 28—30° 14 дней.

Mycobact. perrugosum var. ethanicum для своего развития может использовать: этан, пропан, бутан, пентан, гексан, гептан и парафин (метана, бензола, нафталина и солей фталиевой и бензойной кислот он не усваивает). В атмосфере окиси углерода (0,1%) и воздуха исследуе-

мый микроорганизм не развивается, так же как и в атмосфере водорода (30%) и воздуха.

Минимальная концентрация этана, при которой еще происходит образование пленки Mycobact. perrugosum var. ethanicum, составляет 0,5%.

Отношение Mycobacterium perrugosum var. ethanicum к pH среды

Опыты проводились с минеральной средой в атмосфере этана и воздуха при температуре 28° в интервале значений pH от 5,30 до 8,50; длительность опыта 14 дней. Активная реакция среды определялась по методу Джиллепси. Визуальное развитие Mycobact. perrugosum var. ethanicum наблюдалось, начиная с pH среды = 6,50. Оптимум развития наблюдался при pH = 7,0—7,2; при pH среды = 8,50 развитие прекращалось.

Распространение Mycobacterium perrugosum var. ethanicum в природе

Анализ грунтов из нефтеносных и газоносных районов на содержание микроорганизмов, окисляющих этан, показал малую распространенность этих бактерий.

При обследовании 30 проб озерной воды и 45 образцов грунтов, отобранных С. И. Кузнецовым в Московской области и в районах Западной Сибири, и 45 проб лиманной грязи Mycobact. perrugosum var. ethanicum не был обнаружен.

II. Пропаноокисляющие микроорганизмы

Пропан (C_3H_6), как и этан, является гомологом метана и представляет собой химически инертный газ. Он встречается в нефти, в природных газах (в последних содержание его доходит до 17% [7] и в подпочвенном воздухе над нефтяными месторождениями [5] в микроконцентрациях.

В литературе есть ряд сообщений о том, что пропан находится не только в нефтяных газах, но также и в болотном газе [9] и в газах, выделяющихся из метантэнков [13]. На возможность бактериального окисления пропана указывалось в работах Тауча и Доната [12] и Хеттон (Hutton [10]).

Накопительная культура бактерий, окисляющих пропан, выделенных из грунта, отобранного с глубины 3 м в Краснодарском крае, была получена автором от Дианової.

Выделение и описание микроорганизмов, окисляющих пропан

Применявшаяся методика выделения микроорганизмов, окисляющих пропан, аналогична вышеописанной методике для выделения Mycobact. perrugosum var. ethanicum. Различие заключается лишь в составе газовой атмосферы: для выделения микроорганизмов, окисляющих пропан, применялась смесь $^1/_3$ пропана и $^2/_3$ воздуха. Для опыта употреблялся пропан, отфракционированный от природного газа. Микроорганизмы, окисляющие пропан, образуют на минеральной среде в атмосфере пропана и воздуха желтую, гладкую пленку, состоящую в основном из палочек размером 1,0—1,3 × 0,25—0,4 μ. Встречаются и более крупные, искривленные палочки. Клетки в ранней стадии роста на МПБ имеют палочковидную форму — 4,2—2,1 × 0,4—0,8 μ, нередко наблюдаются ветвящиеся формы. На МПБ образуется красный осадок, на МПА — налет кораллового цвета.

На минеральном выщелоченном агаре в атмосфере пропана с воздухом вырастают колонии кораллового цвета диаметром до 3 мм. Налет на сусло-агаре имеет оранжево-красный оттенок и комковато-зернистую консистенцию. Микроорганизмы грамположительны, желатины не разжижают, молоко слабо пептонизируют, индола не образуют, клетчатки не разлагают, на картофеле образуют обильный налет терракотового цвета, крахмала не гидролизуют, жиры (подсолнечное масло) разлагают, нитраты восстанавливают. Славнина [4] у исследуемого организма обнаружила каталазу.

На основании перечисленных признаков окисляющие пропан бактерии ближе всего подходят к Mycobact. rubrum, однако по способности окислять пропан и восстанавливать нитраты они отличаются от типичного представителя Mycobact. rubrum. Поэтому мы считаем необходимым выделить их в отдельную разновидность Mycobact. rubrum var. propanicum Bokova.

Отношение Mycobacterium rubrum var. propanicum к различным углеводородам, окиси углерода и водороду

Были проведены опыты по изучению способности указанного микроорганизма усваивать углеводороды: метан, этан, пропан, бутан, пентан, гексан, гептан, парафин, бензол, циклогексан и нафталин, а также фталевую и бензойную кислоты, окись углерода и водород. Опыты проводились по той же методике как с Mycobact. perrugosum var. ethanicum.

В результате проведенных опытов установлено, что Mycobact. rubrum var. propanicum не окисляет метана, этана, бензола, циклогексана и нафталина, но окисляет пропан, бутан, пентан, гексан, гептан. Циклические углеводороды и соли фталевой кислоты Mycobact. rubrum var. propanicum не усваивает. Парафин и соли бензойной кислоты усваивает. Окиси углерода и водород не использует.

Минимальные концентрации пропана, требующиеся для развития Mycobact. rubrum var. propanicum

Для выяснения минимальных концентраций пропана, необходимого для развития исследуемого организма, был проведен ряд опытов, в которых культура Mycobact. rubrum var. propanicum в жидкой питательной среде выращивалась в атмосфере воздуха с различным содержанием пропана.

Содержание пропана в атмосфере в количестве 0,01% при достаточно большом объеме газа (3 л) и небольшой площади питательной среды вызывает заметное развитие Mycobact. rubrum var. propanicum при длительности опытов 6—9 дней.

Аналогичные опыты проводились нами совместно с Кузнецовой и Кузнецовым [1] при протягивании смесей воздуха с малыми количествами пропана, около 0,001%, через культуру Mycobact. rubrum var propanicum в жидкой питательной среде. В этих условиях при малых скоростях протягивания газа наблюдалось увеличение количества бактерий, учитывавшихся микроскопическим методом.

Усвоение Mycobacterium rubrum var. propanicum различных органических соединений

Опыты ставились на минеральной среде с добавлением в качестве источника органического вещества пептона, аспарагина, сахарозы, солей лимонной кислоты. Указанные органические вещества применялись в количесте 0,1—1,0%. На всех перечисленных источниках органических

веществ наблюдается рост Mycobact. rubrum var. propanicum более интенсивный, чем в атмосфере пропана и воздуха. При последующих пересевах исследуемого микроорганизма из среды с органическим веществом в минеральную среду и в атмосферу пропана и воздуха снова образовалась характерная пленка. Следует отметить, что при первом пересеве из среды с органическим веществом развитие Mycobact. rubrum var. propanicum происходило менее интенсивно, чем при посеве после предварительного культивирования на минеральной среде.

Отношение Mycobacterium rubrum var. propanicum к pH среды

Методика данных опытов была аналогична методике, примененной для Mycobact. perrugosum var. ethanicum. Развитие Mycobact. rubrum var. propanicum наблюдается в среде при pH = 5,90. Оптимальное развитие при pH среды 6,7—6,8; развитие происходит и при pH = 8,50. Среды с более высокими значениями pH не испытывались.

Использование связанного кислорода Mycobacterium rubrum var. propanicum

Опыты проводились с двумя минеральными средами: в первой источником кислорода были сульфаты (0,5%) (азот вносился в форме хлористого аммония); во второй — нитраты (0,1%) и сульфаты (0,02%). Среды разливались по пробиркам высоким слоем, заражались взвесью Mycobact. rubrum var. propanicum и помещались под колокол, из которого выкачивался воздух; колокол наполнялся пропаном, после чего остаток кислорода поглощался щелочным раствором пирогаллола. В качестве контроля такая же серия опытов ставилась в атмосфере пропана и воздуха в соотношении 1 : 3. Опыт продолжался 14 дней. По истечении этого срока в пробирках, находившихся только в атмосфере пропана без кислорода, развития не наблюдалось; среды оставались прозрачными, в то время как в атмосфере пропана и воздуха на поверхности среды образовывалась характерная пленка. Таким образом, Mycobact. rubrum var. propanicum для своего развития может использовать только молекулярный кислород.

Распространение Mycobacterium rubrum var. propanicum в природе

Десятки тысяч образцов грунтов исследовались на присутствие микроорганизмов, использующих пропан, как единственный источник углерода [5]. Образцы грунта отбирались с глубины 3 м.

Анализы грунтов показали, что скопления микроорганизмов, окисляющих пропан, возникают в подпочвенных отложениях в местах миграции углеводородных газов, где происходит биологическое окисление пропана [5]. Микроскопический просмотр пленок, образующихся при инкубации образцов грунта в минеральной среде и атмосфере, содержащей пропан, показал однородность и близость их к Mycobact. rubrum var. propanicum.

Имеющиеся в литературе указания на возможность современного образования пропана [11, 15] заставили нас провести обследование образцов ила, торфа, почвы и озерных вод на присутствие микроорганизмов, окисляющих пропан.

Образцы были отобраны Кузнецовым в ряде районов Калининской, Кокчетавской и Челябинской областей, в местах, где проникновение углеводородных газов с глубины мало вероятно. В 40 обследованных образцах воды Mycobact. rubrum var. propanicum обнаружен только в

одном случае. Из 88 образцов ила и торфа он был найден только в трех образцах; в сброженном осадке метантэнков не обнаружен. В 198 образцах, отобранных в Раменском районе Московской области с глубины 1,5—2,5 м [8], ни в одном образце Mycobact. rubrum var. propanicum не обнаружен; в образцах лиманной грязи этот микроорганизм встречался лишь в единичных случаях.

III. Усвоение углеводородов культурами Proactinomyces и Mycobacterium

В связи с тем, что микроорганизмы, окисляющие этан и пропан, оказались принадлежащими к роду Mycobacterium, нами был обследован ряд штаммов Mycobacterium и Proactinomyces на способность окислять газообразные, жидкие, твердые и циклические углеводороды. Культуры Mycobacterium и Proactinomyces были любезно предоставлены нам Красильниковым.

О способности Mycobacterium и Proactinomyces использовать жидкие и твердые углеводороды как единственный источник органического вещества, упоминалось Цобеллом [13], способность же окислять газообразные углеводороды у Mycobacterium и Proactinomyces не исследовалась.

Опыты проводились в минеральной среде; газообразные и жидкие углеводороды применялись согласно описанной выше методике, парафин и нафталин наносились на поверхность среды, фталевокислый натрий добавлялся к среде в количестве 2%.

Исследованные виды Mycobacterium и Proactinomyces, за исключением Mycobacter. perrugosum var. ethanicum и Mycobact. rubrum var. propanicum, газообразных и жидких углеводородов не окисляли (см. таблицу).

Определение систематического положения микроорганизмов, окисляющих этан и пропан, проводилось при непосредственной консультации Красильникова, которому автор приносит искреннюю благодарность.

Усвоение углеводородов и фталевокислого натрия культурами Mycobacterium и Proactinomyces

Культура	Метан	Этан	Пропан	Бутан	Пентан	Парафин	Нафталин	Фталевокислый натр
Mycobact. longisporum	—	—	—	—	—	—	—	+
„ tetragenum	—	—	—	—	—	—	—	—
„ luteum	—	—	—	—	—	—	—	—
„ rubrum*	—	—	—	—	—	—	—	—
„ hialinum	—	—	—	—	—	—	—	—
„ rubrum var. propanicum	—	—	+	+	+	+	—	—
„ perrugosum var. ethanicum	—	+	+	+	+	+	—	—
Proactinomyces citreum	—	—	—	—	—	—	—	—
„ album	—	—	—	—	—	—	+	—

* Получен от С. И. Кузнецова.

Примечание. — отсутствие развития; + развитие есть.

Выводы

1. Mycobacterium perrugosum ethanicum Bokova окисляет этан и вышестоящие углеводороды жирного ряда.

2. Mycobact. rubrum var. propanicum Bokova окисляет пропан и вышестоящие углеводороды жирного ряда.

3. Mycobact. perrugosum var. ethanicum и Mycobact. rubrum var. propanicum могут использовать для своего развития микроконцентрации этана и пропана.

4. Mycobact. perrugosum var. ethanicum и Mycobact. rubrum var. propanicum усваивают также растворенные органические вещества; при последующем пересеве в минеральную среду в атмосферу газообразных углеводородов не теряют способности развиваться исключительно за счет углеводородов.

5. Оптимальная реакция среды для описанных микроорганизмов находится в интервале значений pH = 6,8—7,2.

Mycobact. perrugosum var. ethanicum в природе встречается очень редко.

Научно-исследовательский
институт геофизических и геохимических
методов разведки
Москва

Получено 17. I 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бокова Ек. Н., Кузнецова В. А., Кузнецов С. И. Окисление газообразных углеводородов бактериями, как основа микробиологической разведки на нефть, ДАН СССР, 56, 755, 1947.
2. Губин В. М. Об усваивающих углеводороды бактериях Тамбуканской и Петровской грязи в связи с вопросом газообразования. Курортное дело, № 5, 1923.
3. Могилевский Г. А. Микробиологический метод поисков газовых и нефтяных залежей. БТЭИ ЦИМТнефти, Гостоптехиздат, 1953.
4. Славнина Г. П. Пероксидаза у метаноокисляющих бактерий. ДАН СССР, 56, № 2, 205, 1947.
5. Соколов В. А. Прямые геохимические методы поисков нефти. Гостоптехиздат, 1947.
6. Суббота М. И. О распространении углеводородных бактерий и возможности влияния некоторых органических соединений на показатели газовой съемки. Разведка недр, № 3, 1948.
7. Фастовский В. Г. Источники и пути использования метана. Природа, № 10, 18, 1946.
8. Чистяков Ф. М. К вопросу о влиянии твердой фазы на развитие ацетонобутиловых бактерий в жидких средах. Микробиология. I, 19, 1932.
9. Cox. B. B. Report of a conference on the origin of oil, 5, 14, 1941.
10. Hutton W. E. a. Zobell Cl. E. The occurrence and characteristics of methane-oxidizing bacteria in marine sediments. J. Bact. 58, No. 4, 463, 1949.
11. Neave S. L. a. Buswell A. M. Treatment and disposal of distillery slop by anaerobic digestion methods. Ind. Eng. Chem., 20, No. 9, 837, 1928.
12. Tausz J. u. Donath P. Über die Oxydation des Wasserstoffs und der Kohlenwasserstoffen mittels Bakterien. Z. physiol. Chem., 190, 141, 1930.
13. Zobell Cl. E. Assimilation of hydrocarbons by microorganisms. Adv. Enz., X, 443, 1950.
14. Zobell Cl. E. Contributions of bacteria to the origin of oil. Proc. of the Third World Petroleum Congress, Section I, 418, 1951.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ ПРИ РОСТЕ ИХ В ФИЛЬТРАТАХ ДРУГИХ БАКТЕРИЙ

В. П. Израильский

Мы поставили приводимые ниже опыты с целью проверить исследования других авторов, в частности опыты Красильникова.

Красильников [1] указывает, что клубеньковые бактерии люцерны при росте их на фильтратах бактерий клевера стали заражать растения клевера и давать на их корнях клубеньки. К сожалению, с 1945 г. эти опыты не были подтверждены ни Красильниковым, ни другими авторами.

Кроме того, Рудаков [2] сомневается в этом и предполагает, что «в опытах Красильникова происходило не возникновение новых бактериальных видов, но приобретение так называемых «наведенных» свойств, аналогичных свойству параагглютинаций».

С целью проверки этих положений мы поставили несколько серий опытов. Техника опытов заключалась в следующем: старые культуры клевера или люцерны отфильтровывались через фильтр Беркефельда (*N*). Фильтраты многократно проверялись на стерильность для того, чтобы в дальнейшем исключить возможность работы с теми фильтратами, в которые прошли клубеньковые бактерии. Для опытов оставлялись только такие фильтраты, которые в течение длительного срока (две-три недели) не давали видимого роста бактерий на новых средах.

Такие фильтраты заражались: фильтраты клеверных бактерий — бактериями люцерны, фильтраты бактерий люцерны — клеверными бактериями.

В каждой серии обязательно оставлялся контроль или фильтрат без заражения. Через два-три месяца[1] культуры рассевались на чашках Петри и из выросших колоний выделялись чистые культуры.

Время, необходимое для выращивания клубеньковых бактерий в фильтрате, представляло для нас большое затруднение. Красильников [1] в одном случае говорит, что бактерии воспитывались от $2^1/_2$ до 6 месяцев (стр. 230), в другом — от 4 до 6 месяцев, а в третьем утверждает, что лучшие результаты были при четырехмесячном воспитании бактерий на фильтрах. Мы решительно отрицаем такое громадное значение, какое придает этим срокам Красильников, тем более что сроки два-три месяца во всяком случае были бы достаточны, чтобы воздействовать на бактерии. Мы указываем на то, что другие авторы в медицинской микробиологии для изменения бактерий обходятся значительно более короткими сроками. Не довольствуясь такими длительными сроками, мы в одной серии опытов провели испытание с короткими сроками (две-три недели), но при этом довели бактерии до трех пассажей (IX серия опытов).

После выделения бактерий из фильтратов они испытывались по росту на МПА и МПБ, а также по их отношению к специфическим бактериофагам для бактерий клевера и люцерны. Специфичность этих фагов была многократно установлена предварительными опытами.

Результаты испытания свойств бактерий, изолированных из фильтратов, приводятся в табл. 1—4.

---

[1] Фильтраты с бактериями культивировались сначала при 28° до появления роста бактерий, а потом при комнатной температуре.

I серия опытов. Фильтраты бактерий клевера штамма 18/10 были заражены бактериями люцерны штамм 270. Через два месяца изолированы бактерии, которые обозначены в таблице условными шифрами. Бактерии проверялись на рост на МПА и МПБ и отношение к фагам.

Таким образом, проверка фильтратов бактерий клевера с развившимися в них бактериями люцерны, а также изолированных из этих фильтратов бактерий на образование клубеньков у клевера дала полностью отрицательный результат, как это видно из табл. 1.

Таблица 1

Испытание свойств фильтратов бактерий клевера (I серия) и изолированных из них бактерий

Свойства бактерий и фильтратов / Фильтраты и изолированные из них бактерии	МПА	МПБ	Лизис бактериофагом бактерий		Образование клубеньков на растениях клевера
			клевера	люцерны	
Фильтраты бактерий клевера, незараженные, I серия (контроль)* . .					—
Фильтраты бактерий клевера I серия, зараженные бактериями люцерны штамм 270**					—
Бактерии, изолированные из фильтрата. Шифр: (18/10+270) светлые .	+	+	—	+	—
Бактерии, изолированные из фильтрата. Шифр: (18/10+270) темные .	+	+	—	+	—
Бактерии, изолированные из фильтрата. Шифр (18/10+270) складчатые	+	+	—	+	—
Чистые культуры Rh. trifolii штамм 18/10	—	—	+	—	+
Чистые культуры Rh. meliloti штамм 270	+	+	—	+	—

* Фильтраты испытывались на образование клубеньков у клевера.

** Фильтраты с развившимися бактериями люцерны (штамм 270) испытывались на образование клубеньков у клевера.

II серия является повторением I серии с теми же результатами.

III серия опытов состояла в том, что фильтраты клубеньковых бактерий клевера засевались разными штаммами бактерий вики штамм 133. Затем, как и в предыдущих опытах, изолировались из зараженных фильтратов бактерии под шифрами 133, 133_1, 133_2 и 133_3. Проверка свойств этих бактерий бактериофагом и испытанием роста на МПА естественно не могла осуществиться, так как бактерии вики так же не растут на мясных средах, как и бактерии клевера, и растворяются фагом бактерий клевера. Заражение же этими штаммами растений клевера дало всюду отрицательный результат в смысле образования клубеньков.

IV серия опытов была поставлена следующим образом. Культуры клевера (штамм 18_2) из двух пробирок с косым агаром были смыты бобовым отваром в стерильную пробирку и дважды прогреты при 65° по 25 минут. После проверки на стерильность эта взвесь убитых бактерий была заражена бактериями люцерны штамм 417. После полутора-двух месяцев культивирования из этой пробирки были изолированы бактерии и проверены их свойства.

Из табл. 2 видно, что выделены бактерии только со свойствами бактерий люцерны. Они и растворяются бактериофагом бактерий люцерны и не образуют клубеньков на растениях клевера.

V серия опытов. Фильтраты бактерий из старых культур бактерий

Таблица 2

Испытание свойств изолированных бактерий (IV серия)

Свойства бактерий в смывах / Смывы и изолированные из них бактерии	МПА	МПБ	Лизис бактериофагом бактерий		Образование клубеньков на растениях клевера
			клевера	люцерна	
Смыв бактерий клевера, убитых при 65°; не заражен другими бактериями					—
Смыв бактерий клевера, убитых при 65°; заражен бактериями люцерны штамм 417					—
Бактерии, изолированные из предыдущего смыва (18_2+417) темные	+	+	—	+	—
То же (18_2+417) светлые 1	+	+	—	+	—
То же (18_2—417) светлые 2	+	+	—	+	—
Чистые культуры бактерий люцерны штамм 417	+	+	—	+	—
Чистые культуры бактерий клевера Штамм 18_2	—	—	+	—	+

Таблица 3

Испытание свойств изолированных бактерий (V серия)

Свойства бактерий и фильтратов / Фильтраты и изолированные из них бактерии	МПА	МПБ	Лизис бактериофагом бактерий		Образование клубеньков на растениях люцерны
			клевера	люцерны	
Фильтраты бактерий люцерны, незараженные, серия V (контроль)					—
Фильтраты бактерий люцерны, зараженные бактериями клевера штамм 18_2					—
Бактерии, изолированные из предыдущего фильтрата (270+18_{21})	—	—	+	—	—
То же (270+18_{22})	—	—	+	—	—
То же (270+18_{23})	—	—	+	—	—
Чистые культуры бактерий люцерны штамм 270			—	+	+

люцерны штамм 270 засеяны бактериями клевера 18_2. Анализ через два месяца.

Из табл. 3 видно, что из фильтратов бактерий люцерны, зараженных бактериями клевера, изолированы только бактерии со свойствами бактерий клевера.

VI серия — повторение опытов серии IV с той разницей, что для заражения взяты бактерии люцерны штамм 270. Результаты те же.

VII серия опытов. Фильтраты бактерий люцерны смесь штаммов 270, 417 и 441. Заражены бактериями клевера штамм 69.

Ввиду того, что этот опыт с некоторым видоизменением является повторением опыта серии V, мы не приводим таблицу результатов испытания изолированных бактерий, так как результаты те же, как в табл. 3 (серия V).

VIII серия. Фильтраты бактерий люцерны штамм 270 были заражены бактериями клевера штамм 69. Через два месяца этими фильтратами заражены растения люцерны.

Вследствие повторяющихся результатов мы, начиная с VIII серии опытов, не исследовали изолированных из фильтратов бактерий по отношению к бактериофагу. Фильтратами и изолированными из них бактериями заражали соответствующие растения, т. е. фильтратами бактерий

Таблица 4

Образование клубеньков фильтратами клубеньковых бактерий люцерны у растений люцерны (VII и VIII серии)

Серии опытов / Фильтраты бактерий и бактерии	VII серия	VIII серия
Фильтраты бактерий люцерны смесь штаммов 270, 441, 447 (незараженный контроль)	—	Муфтообразные утолщения
Фильтрат, зараженный бактериями клевера штамм 69	Муфтообразные утолщения	То же
Чистая культура бактерий люцерны штамм 270	+	+

люцерны с развившимися в них бактериями клевера, а также изолированными бактериями заражали растения люцерны.

Ввиду сходства результатов мы объединяем в табл. 4 результаты опытов серии VII и VIII.

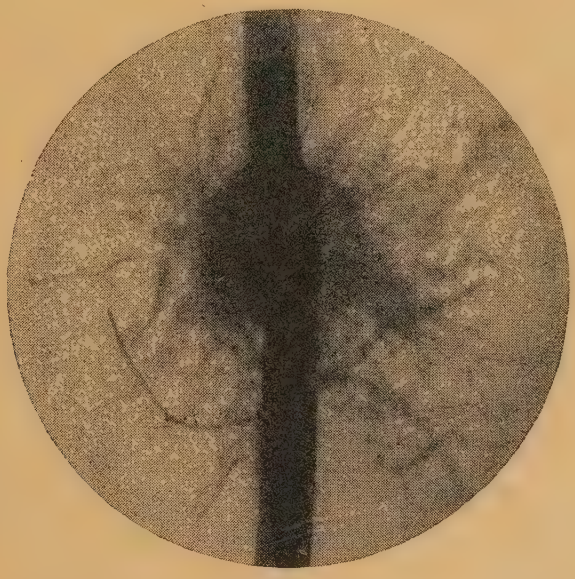


Рисунок. Муфтообразные утолщения на корнях люцерны при действии фильтратов клубеньковых бактерий люцерны (фото А. М. Мозгового)

Как видно из таблицы, в некоторых пробирках на корнях развились муфтообразные утолщения с обильным развитием корневых волосков (рисунок), что никогда не бывает при развитии настоящих клубеньков. Ненормальное развитие корневых волосков было хорошо заметно при небольшом увеличении под лупой и еще лучше под микроскопом при малом увеличении.

В данных опытах муфтообразные утолщения образовались на корнях растений от фильтратов даже без заражения клубеньковыми бактериями клевера (VIII серия).

Из этого можно заключить, что бактерии клевера не играли здесь никакой роли, несмотря на то, что они воспитывались в фильтрате бактерий люцерны.

IX серия опытов заключалась в пересевах бактерий люцерны штаммов 270 и 441. Указанные штаммы люцерны воспитывались на фильтратах бактерий клевера штамм 69 в течение двух недель. После этого срока бактерии люцерны изолировались и ими заражались новые фильтраты бактерий клевера. Таким образом, мы довели штаммы бактерий пока до третьего пересева. Растения клевера, будучи заражены такими бактериями люцерны (штамм 270 и 441), не образовали клубеньков на корнях. Возможно, что для этого необходимо большее количество пересевов, что и будет сделано нами в дальнейших исследованиях.

Что касается муфтообразных утолщений, которые Красильников, возможно (по крайней мере у люцерны), принял за клубеньки, безусловно не являются клубеньками, а образуются или при действии каких-то ростовых веществ, находящихся в фильтратах бактерий люцерны, или же под влиянием фильтрующихся форм клубеньковых бактерий. Этот вопрос требует еще выяснения. Несомненно только, что вздутия эти произошли не от клубеньковых бактерий клевера, так как они развиваются на корнях люцерны даже без участия этих последних, при действии только одних фильтратов бактерий люцерны.

Выводы

1. Использованные в наших опытах фильтраты бактерий люцерны и клевера не действовали соответственно на бактерии клевера и люцерны в смысле изменения их вирулентности и образования клубеньков на указанных бобовых растениях.

2. Муфтообразные вздутия, возникающие на корнях люцерны от фильтратов бактерии люцерны, не являются клубеньками.

Московское отделение
Всесоюзного научно-исследовательского
института
сельскохозяйственной микробиологии

Получено 9. III. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красильников Н. А. Прививка новых свойств вирулентности клубеньковым и некоторым неклубеньковым бактериям. Микробиология, XIV, 230, 1945.
2. Рудаков К. П. Клубеньковые бактерии (Обзор). Микробиология, XIX, 449, 1950.

ФИЛЬТРУЮЩИЕСЯ ФОРМЫ И ИЗМЕНЧИВОСТЬ BACT. FLUORESCENS LIQUEFACIENS

А. А. Имшенецкий и *Л. И. Солнцева*

В результате изучения фильтрующихся форм бактерий уже наметился ряд направлений в исследованиях. Большое внимание уделяется условиям образования фильтрующихся форм бактерий. Это направление неразрывно связано с решением вопроса о том, представляют ли фильтрующиеся формы стадию развития бактерий или неклеточный «осколок» плазмы, который регенерирует затем с образованием бактериальной клетки. Другое направление связано с изучением условий, необходимых для перехода неклеточных форм в клеточные.

Несомненный интерес представляют также работы, в которых сообщается об изменчивости бактериальных культур, возникших из неклеточных форм бактерий. Общеизвестно, что выделение одноклеточной культуры, как правило, не сопровождается изменением свойств микроорганизма. Этот прием широко применяется в общей микробиологии для получения чистых культур. В противоположность этому культуры, полученные из фильтрующихся форм, нередко изменяют свои свойства. Последнее обстоятельство лишний раз убеждает нас в том, что развитие культуры после ультрафильтрации не связано с прохождением единичной вполне развитой бактериальной клетки через фильтр. Изменчивость бактерий, наблюдающаяся при переходе неклеточных форм в типичную бактериальную культуру, позволяет предполагать, что неклеточные формы обладают менее консервативной наследственностью и легче изменяются под влиянием условий существования. Если это предположение будет доказано на различных объектах, то естественно пытаться получать направленные изменения у фильтрующихся форм, как у более лабильных.

Изучая фильтрующиеся формы Bact. fluorescens liquefaciens, мы установили изменчивость у этого вида после посева фильтрата этой культуры на так называемые переваренные среды, т. е. МПБ, на котором предварительно выращивалась исходная культура Bact. fluorescens liquefaciens в течение 6 часов при 30°. Часть такой среды была профильтрована через асбестовый фильтр Зейтца, вторая часть стерилизовалась в Кохе при 100° в течение 30 минут. Эти среды были разлиты по пробиркам. В качестве контроля был взят простой МПБ.

Для получения фильтрующихся форм 30-дневная бульонная культура Bact. fluorescens liquefaciens в пробирке разбавлялась стерильной водопроводной водой (pH = 7,6) в соотношении 1 : 1, после чего культура фильтровалась через асбестовый фильтр Зейтца («С. Ф.»). Полученный фильтрат засевался в пробирки с вышеуказанными средами по 0,5 мл. Всего было проведено 17 фильтраций. Из этого числа опытов только в одном при засеве 20 пробирок, из которых 8 было с переваренной и простерилизованной путем фильтрации средой, 8 с переваренной и простерилизованной в Кохе и 4 с МПБ, появился рост в виде слабой мути через 3 суток в 5 пробирках из 8 на первой среде и в 1 пробирке на второй среде. В остальных пробирках роста не было обнаружено в течение двух месяцев выдержки в термостате.

Полученные нами после фильтрации культуры Bact. fluorescens liquefaciens были обозначены номерами 1—6 и изучены. В процессе изучения производилось сопоставление их морфологических и физиологических

свойств со свойствами исходной культуры, подвергавшейся фильтрации. Клетки у всех полученных культур имели величину 0,5 × 0,9—4,3 μ, тогда как исходная форма была несколько крупнее 0,5 × 1,2—6 μ. Клетки во всех культурах, выросших после фильтрации, были подвижны и развитие их на средах с глюкозой или сахарозой сопровождалось образованием кислот. Таким образом, по этим признакам они не отличались от исходной формы. Значительным изменениям подверглись следующие свойства, столь характерные для Bact. fluorescens. Развиваясь на плотных и жидких средах, полученные варианты совсем не образовывали флюоресцирующего пигмента, который в значительном количестве выделялся в окружающую среду исходной культурой Bact. fluorescens liquefaciens. Так же значительно понизилась у возникших вариантов способность разжижать желатину и вызывать пептонизацию молока. По сравнению с контролем эти культуры были значительно менее активными. Одной из характерных особенностей Bact. fluorescens liquefaciens следует считать интенсивную денитрификацию. Вновь полученные варианты восстанавливали нитраты гораздо слабее, чем исходная культура, подвергавшаяся фильтрации. Таким образом, биохимические особенности культур, возникших благодаря развитию фильтрующихся форм, были ослаблены. В дальнейшем при пересевах культур у некоторых из них наблюдалось восстановление утраченных или ослабленных свойств. Они постепенно начинали образовывать больше флюоресцирующего пигмента, сильнее разжижать желатину и вызывать более интенсивную денитрификацию. Такое восстановление свойств происходило с неодинаковой скоростью у различных культур, но все же ни одна из них не стала полностью сходной с первоначальной культурой, подвергавшейся фильтрации.

Естественно возникало предположение, что культуры, полученные из одной клетки, также могли бы отличаться от исходной культуры Bact. fluorescens liquefaciens. С целью проверить эту возможность были получены культуры Bact. fluorescens liquefaciens из одной клетки. В двух случаях посеянные клетки не развились, в трех случаях на второй день появился рост Bact. fluorescens liquefaciens. Все три одноклеточные культуры по своим свойствам не отличались от исходной культуры Bact. fluoresens liquefaciens. Появление атипических культур при развитии фильтрующихся форм бактерий говорит против гипотезы, согласно которой образование фильтрующихся форм связано со стадийным развитием бактерий. Явление изменчивости и притом обычно сопровождающейся ослаблением биохимических признаков позволяет высказать предположение, что неклеточное вещество бактерий, проходящее через фильтр, может обладать измененной наследственностью и возникающие в дальнейшем формы следует рассматривать как варианты исходной культуры.

Выводы

1. Фильтрующиеся формы у Bact. fluorescens liquefaciens образуются редко. Из 17 опытов они были обнаружены только в одном.

2. Культуры, выросшие после посева фильтратов, резко отличались по своей биохимической активности от исходной культуры Bact. fluorescens liquefaciens. Они слабо разжижали желатину, вызывали менее активную денитрификацию и почти утратили способность образовывать флуоресцирующий пигмент.

3. Культуры Bact. fluoresens liquefaciens, выделенные из одной клетки, по своим биохимическим свойствам не отличались от исходной.

4. Явления изменчивости, наблюдаемые в культурах, развившихся из фильтрующихся форм, не дают основания связывать образование последних со стадийным развитием бактерий.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 25. IV. 1953 г.

ВЛИЯНИЕ СВЕТА НА РАЗВИТИЕ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ

Е. С. Татаренко

Изучением влияния света на грибы микологи занялись в конце XIX в. после того, как было открыто явление фотосинтеза и доказана необходимость света для зеленых растений.

Несмотря на то, что отдельные исследователи, занимавшиеся изучением влияния света на грибы, приходили к заключению, что свет грибам необходим, мнение большинства микологов о том, что свет в жизнедеятельности грибов значения не имеет, оставалось неизменным.

Относительно плесневых грибов такое мнение сохранилось потому, что вопрос этот не подвергался тщательному изучению.

Одним из недостатков в изучении этого вопроса было стремление распространить выводы, сделанные на основании изучения одной-двух культур, на все плесневые грибы.

Первая работа, посвященная влиянию света на грибы, принадлежит Сорокину [4]. Изучением влияния света на грибы занимались многие исследователи [2, 3, 4, 6, 7, 8].

Некоторые исследователи, изучая условия, необходимые для роста грибов, попутно обращали внимание на то, как реагируют грибы на действие света.

В настоящее время большинство микологов считает, что свет в жизнедеятельности плесневых грибов значения не имеет, и потому выращивают их в темноте.

В нашем исследовании изучалось влияние света на развитие видов Aspergillus и Penicillium, для чего прочие условия — температура, влажность, pH среды и аэрация — сохранялись неизменными.

Действию света были подвергнуты музейные культуры грибов: Aspergillus amylovorus Panass., Asp. candidus Link, Asp. flavipes Bain-Sart., Asp. Chevalieri Magn., Asp. oryzae Cohn, Asp. repens Sacc., Asp. amstelodami Thom et Church, Asp. nidulans Eid., Asp. alliaceus Thom et Church, Asp. flavus Link, Asp. ochraceus Wilh., Asp. Sydowi Bain-Sart., Asp. niger v. Tiegh., Asp. fumigatus Fres., Asp. spurius Schroet., Asp. terreus Thom, Asp. Wentii Wehm., Asp. versicolor Tierab., Asp. penicilloides Spegaz., Asp. clavatus Desm., Asp. varians Wehm., Asp. carbonarius Thom, Penicillium rubrum Stoll, P. purpurogenum Fler.— Stoll, P. ucrainicum Panass., P. luteum Zuk., P. rugulosum Thom, P. glabrum Wehm., P. chrysogenum Thom, P. columnare Thom, P. cyclopium Westl., P. Thomi Maire.

Многие из этих видов были представлены несколькими штаммами. Влияние света изучалось на 67 культурах. Для этого использован естественный и искусственный свет, а именно: солнечная радиация, рассеянный солнечный свет и электрический свет интенсивностью 4500, 640, 180 и 120 лк.

Методика

Влияние света на грибы изучалось в пробирках при посевах на косой агар. Применялась агаризованная среда Чапека или сусло-агар. Пробирки, которые подвергались освещению, ставились в штатив незащищенными, а те, которые должны были находиться в темноте, защищались от света черной бумагой. В штативы рядом с подопытными пробирками

ставились термометры — один в пробирку, обернутую в черную бумагу, а другой — в пробирку незащищенную. Между источником света и штативом с пробирками ставились плоские сосуды с дестиллированной водой, чтобы задержать тепловые лучи. В опытах с испытанием действия рассеянных солнечных лучей перед штативами с культурами сосуды с водой не ставились. В опытах с испытанием действия прямых солнечных лучей на развитие плесневых грибов вода в сосудах менялась по мере нагревания. Ежедневно измерялась температура воздуха и записывались метеорологические данные.

При испытании действия рассеянных солнечных лучей штативы с культурами ставились на окно, выходящее на север, а при испытании действия солнечной радиации штативы с культурами ставились на окно, выходящее на юг.

В опытах с испытанием действия различных лучей спектра пробирки с культурами помещались в картонные коробочки, открытые только с одной стороны, обращенной к источнику света. Между источником света и штативом с пробирками ставились светофильтры в виде плоскопараллельных сосудов, наполненных цветными растворами, приготовленными по следующим рецептам (таблица) [1].

Состав примененных светофильтров

Цвет	расящее вещество	Толщина слоя в см	В г на 100 мл воды	Максимальная интенсивность в мμ	Рецепты составлены
Красный	Кристаллвиолет 5ВО		0,005		По Ландольту
	Хромовокислый калий	2	10,0	665,9	„ „
Желтый	Двухромовокислый калий . .	7	6,0	589	По Ландольту
Зеленый	Виктория желтая		0,25		„ „
	Хлористая медь	2	60,0	533,2	По Винтеру
Синий	Кристаллвиолет 5ВО		0,0025		„ „
	Хлорная медь	2	25,0	465,5	„ „

Питательные среды Чапека и сусло-агар всегда приготовлялись с 3% агар-агара. В пробирки всегда наливалось одинаковое количество питательной среды и скашивались они под одним углом. Инокуляция производилась во всех пробирках на одинаковом расстоянии от скошенного края питательной среды. Интенсивность светоизлучения устанавливалась при помощи люксметра.

* * *

Изучение действия света на различные виды родов Aspergillus и Penicillium показало, что при естественном и электрическом освещении наметились определенные закономерности в развитии этих организмов.

Свет угнетал рост мицелия, сумчатое спорообразование и стимулировал конидиальное спороношение.

На основании проведенной работы виды родов Aspergillus и Penicillium условно можно разделить на три группы в зависимости от их чувствительности к свету.

Устойчивые организмы обладают голубовато-зеленой, зеленой и черной окраской конидий и неокрашенным мицелием; чувствительные — имеют в мицелии и выделяют в субстрат красные, оранжевые и желтые пиг-

менты и бесцветные конидии; промежуточное положение занимают плесневые грибы, имеющие сумчатую стадию, у которых свет стимулирует конидиальное спороношение и угнетает развитие клейстокарпиев, а также шерстистые культуры с большим количеством воздушного мицелия.

Особенно чувствительными к свету являются такие плесневые грибы, как: P. purpurogenum, P. luteum, P. rugulosum, P. rubrum, Asp. candidus, которые даже в рассеянных солнечных лучах в июле очень слабо росли на поверхности питательной среды, мицелий их развивался главным образом в толще питательной среды. В темноте все эти организмы развивались обычно.

В сентябре в рассеянных солнечных лучах рост и спорообразование у P. rubrum, P. rugulosum, P. purpurogenum, Asp. candidus были интенсивнее, чем в темноте.

Более короткие дни и меньшая интенсивность света оказали стимулирующее действие на конидиальное спорообразование изучавшихся грибов. Интенсивный свет разрушал красный, оранжевый, желтый и бурый пигменты, образующиеся в мицелии и выделяемые в субстрат.

Электрический свет интенсивностью 4500 лк при температуре 30° разрушал оранжевый пигмент мицелия P. rubrum и желтый пигмент P. luteum в течение 24 часов, красный пигмент P. purpurogenum разрушался после пребывания пробирки с культурой в течение 15 минут под действием солнечной радиации.

Оранжевый пигмент мицелия P. rubrum в жизнедеятельности гриба является существенно необходимым, так как образование конидий связано с появлением пигмента. На свету появлялись конидии только после того, как мицелий розовел. Однако прямой корреляции между образованием пигмента и образованием конидий тоже не наблюдалось.

Для выяснения роли фотопериодизма и интенсивности освещения был взят наиболее резко реагирующий на действие света гриб P. rubrum № 431. Посев произведен на среду Чапека в 24 пробирки, из которых 2 пробирки поставлены в темноту и по 2 пробирки освещались в течение суток по 22, 20, 18, 16, 14, 10, 8, 6, 4, 2 часа, 2 пробирки освещались непрерывно электрическим светом интенсивностью 4500 лк. Одновременно при освещении интенсивностью 640 и 120 лк было поставлено тоже по 2 пробирки на свету и в темноте.

Наилучшее развитие наблюдалось в пробирках, освещавшихся в течение 8 и 10 часов в сутки электрическим светом интенсивностью 4500 лк, а также непрерывно находящихся на свету интенсивностью 120 лк.

При непрерывном освещении интенсивностью 120 лк культуры были такие же, как при освещении в течение 10 часов светом интенсивностью 4500 лк. Этот опыт был повторен много раз с такими же результатами. Отсюда можно сделать вывод, что для P. rubrum № 431 имеет одинаковое значение периодическое освещение интенсивным светом и непрерывное освещение светом слабой интенсивности. Образование пигмента находилось в прямой зависимости от роста мицелия. В тех пробирках, где рост мицелия был интенсивнее и окраска мицелия была ярче, в пробирках с паутинистым мицелием не было окраски. Интенсивный свет задерживал рост мицелия и образование пигмента. Свет слабой интенсивности стимулировал спорообразование.

Физиологическая сущность установленной потребности плесневых грибов в свете не выяснена.

Промежуточное положение между особенно чувствительными и устойчивыми к свету организмами занимают представители, имеющие в цикле своего развития сумчатую стадию. К этой группе относятся Asp. nidulans, Asp. amstelodami, Asp. repens, P. ucrainicum и организмы шерстистые или частично начинающие утрачивать способность к обильному конидиеобразованию, такие, как имеющиеся в коллекции нашего института Asp. spurius, Asp. terreus, Asp. Sydowi, P. glabrum и др.

У видов с сумчатыми стадиями при освещении рассеянными и прямыми солнечными лучами, а также при интенсивном электрическом свете клейстокарпии не развивались, в то время как образование конидий происходило интенсивно.

В темноте преобладал рост стерильного мицелия. Организмы с шерстистыми дерновинками оказались более чувствительными к яркому свету, чем с бархатистыми, повидимому потому, что они имеют большую массу воздушного мицелия, который более резко реагирует на вредное действие света.

Устойчивыми к действию света оказались грибы с зелеными, сине-зелеными и черными пигментами, такие как: Asp. flavus, Asp. varians, Asp. fumigatus, Asp. clavatus, Asp. penicilloides, Asp. niger и все виды рода Penicillium с голубовато-зелеными дерновинками, не образующие в мицелии оранжевых и красных пигментов.

Свет задерживал образование склероциев у Asp. carbonarius, Asp. flavus, Asp. alliaceus и P. Thomi.

Безразличное отношение к свету конидиальных стадий устойчивой группы плесневых грибов было отмечено только у нормальных организмов. В случае частичной утраты спороношения наблюдалось заметное различие в развитии на свету и в темноте, а именно: свет стимулировал спорообразование.

Несколько серий опытов с Asp. nidulans было проведено с целью направленной изменчивости этого организма под действием света.

Эти опыты показали, что Asp. nidulans, как организм с яркозелеными дерновинками, реагирует на действие света в том случае, если у него начинается явление дегенерации.

Действием света слабой интенсивности в течение 8 пересевов удалось задержать дегенерацию у Asp. nidulans № 566 и восстановить нормальное спороношение, которое сохраняется и в следующих поколениях. Культивирование этого штамма в темноте привело к полной дегенерации.

Образование стерильных вариантов у всех плесневых грибов при культивировании их в лабораторных условиях происходит так же, как это наблюдалось в наших опытах с Asp. nidulans.

У организмов, не обнаруживающих хотя бы частичной дегенерации, не наблюдалось при каком-либо освещении шерстистых дерновинок с преобладанием стерильного мицелия. Во всех опытах проявлялась определенная закономерность: в темноте интенсивнее рос мицелий, на свету интенсивнее образовывались конидии.

Свет оказывает неодинаковое воздействие на пигменты мицелия и конидий. Пигменты мицелия видов Aspergillus и Penicillium на свету разрушаются, пигменты конидий большинства видов сохраняются неизменными. Наличие пигментов у плесневых грибов, повидимому, связано с потребностью в свете для их развития, так как организм, не нуждающиеся в освещении, как правило, пигментов не имеют.

Защитными свойствами против вредного действия сильного света обладают зеленые, сине-зеленые и черные пигменты конидий. Организмы, обладающие такими пигментами, могут развиваться при любом освещении, и, как известно, они наиболее широко распространены в природе.

Плесневые грибы родов Aspergillus и Penicillium с красными, оранжевыми и желтыми пигментами в мицелии нуждаются в слабом освещении.

Наилучшее развитие всех подопытных плесневых грибов наблюдалось при выращивании их в естественном рассеянном свете в сентябре и при электрическом освещении интенсивностью 120 лк.

В разных лучах спектра электрического света и в рассеянных солнечных лучах развитие изучавшихся грибов происходит неодинаково. Синий свет стимулирует образование конидий и угнетает рост мицелия, сумчатое спороношение и склероции. Действие синего света сильнее, чем белого.

В красных лучах развитие происходит как в темноте: интенсивнее растет мицелий, не чувствуется угнетения в развитии клейстокарпиев и склероциев и не происходит обесцвечивания красного, оранжевого и желтого пигментов. Культуры, выращенные в зеленых и желтых лучах, занимают промежуточное положение.

Следует отметить, что не все плесневые грибы реагируют на действие света так же, как виды Aspergillus и Penicillium, так, например, культуры Naumoviella terricola и Fusarium moniliforme при выращивании в темноте снежнобелые, а на свету приобретают розовую окраску. Mucor Rhouxi и Mucor hiemalis в темноте желтые, на свету яркооранжевые. Культуре M. Rhouxi придают цвет капли жира в мицелии, которые на свету становятся ярче.

Свет стимулирует образование конидий у всех плесневых грибов.

Выводы

1. Свет задерживает рост мицелия грибов, относящихся к родам Aspergillus и Penicillium.

2. Интенсивный свет препятствует развитию сумчатой стадии у Asp. nidulans, Asp. repens, Asp. amstelodami, Asp. Chevalieri, P. ucrainicum и задерживает образование склероциев у Asp. carbonarius, Asp. alliaceus, Asp. candidus, Asp. flavus, Asp. Thomi.

3. Свет слабой интенсивности стимулирует образование конидий.

4. Темнота способствует росту мицелия, но длительное культивирование плесневых грибов в темноте приводит к утрате ими способности образовывать конидии и к возникновению стерильных или дегенеративных форм.

5. У культур, частично дегенерировавших, можно повысить интенсивность образования конидий культивированием на свету слабой интенсивности.

6. Повышенная интенсивность образования конидий, достигнутая культивированием на свету, сохраняется в следующих поколениях.

7. Изучение влияния монохроматического света показало, что синие лучи спектра угнетают рост мицелия, развитие сумчатой стадии и склероциев и образование красного, оранжевого и желтого пигментов у P. rubrum, Asp. amylovorus, P. purpurogenum; стимулируют образование конидий. Красные лучи не угнетают роста мицелия, образования сумчатой стадии и склероциев; не обеспечивают красный, оранжевый и желтый пигменты.

Украинский научно-исследовательский институт пищевой промышленности
Харьков

Получено 11. IV. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вейгерт Ф. Оптические методы химии. 1933.
2. Жуковский П. М. и Медведев Ж. Значение световой энергии и каротиноидов для развития бесполого и полового поколений в растительном мире. Успехи совр. биол., XXVI, вып. 1 (4), 1948.
3. Регель К. Е. О действии света на грибы. Тр. СПб. об-ва естествоиспыт., 1881.
4. Сорокин Н. В. О влиянии света на грибы. Приложение к прот. Об-ва естествоиспыт. при Казанском университете 1872—1873 гг.
5. Ячевский А. А. Основы микологии. М.— Л., 1933.
6. Ebeling K. Über den Einfluss von Licht auf die Farbstoffbildung bei Penicillium Thom. Arch. Mikrob. 9, 1, 1938.
7. Porter C. L. and Bockstaehler H. W. Concerning the reaction of certain fungi to various wave lengths of light. Proc. Ind. Acad. Sci., XXXVIII, 1926, 133—135, 1929.
8. Weston D. The sporulation of Helminthosporium avenae and Alternaria solani in artifical culture. Britisch. Mycological Soc. Trans., vol. XX, 1936.

К МЕТОДИКЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО УЧЕТА МИКРООРГАНИЗМОВ, СПОСОБНЫХ РАЗЛАГАТЬ КЛЕТЧАТКУ В ПОЧВЕ

О. И. Пушкинская

Клетчатка, являясь одной из главных составных частей растительных клеточных оболочек, играет большую роль в круговороте углерода в природе.

В 1929 г. С. Н. Виноградский писал: «Можно думать, что именно целлюлоза является основным источником энергии для всей жизни почвы». Белкам и сахарам он отводил значительно меньшую роль.

Разложение клетчатки в почве происходит под влиянием различных микроорганизмов, поэтому весьма важно иметь методы, позволяющие достаточно точно учесть количество этих микроорганизмов и их видовой состав.

В настоящее время имеется несколько методов, применяющихся в основном для обнаружения бактериальной и грибной флоры, способной производить разложение клетчатки в аэробных условиях. Все методы сводятся к посевам почвы на твердые или жидкие среды. В качестве твердого субстрата Виноградский [1], Имшенецкий и Солнцева [2, 3, 4], Славнина [7], Исаченко и Вакенгут [5] и другие пользовались кремнекислыми гелем. В ряде случаев рекомендуется целлюлозный агар (Омелянский [6]). Каждый комочек почвы, положенный на поверхности фильтровальной бумаги на кремнекислом геле или целлюлозном агаре, обрастает колониями различных микроорганизмов.

Виноградский считал, что этот способ нельзя заменить никаким другим, который бы позволил выделять специфических микробов из естественной среды с таким успехом, быстротой и уверенностью ([1] стр. 494).

Тем не менее этот прием является далеко не совершенным. Микроорганизмы находятся в тесном сообществе и не исключена возможность роста некоторых из них около комочков почвы за счет продуктов гидролиза клетчатки, производимого другими видами. Еще менее пригоден для учета видового состава микроорганизмов, разрушающих клетчатку, метод посева почвы в жидкие среды. Более удобным для этих целей является метод почвенных пластинок, предложенный Кристенсеном (Christensen [8]). По количеству прозрачных и окрашенных зон, появляющихся на фильтровальной бумаге, положенной на поверхность почвы, можно получить представление об интенсивности процессов распада клетчатки. Микроскопирование материала из появившихся зон позволяет определить характер микробных ассоциаций, разрушающих клетчатку.

Но ни один из рекомендованных способов не дает возможности провести точное количественное определение различных групп микроорганизмов-целлюлозоразрушителей. Для этой цели мы в своей работе применили следующую методику. В стерильные чашки Петри разливается расплавленный питательный агар, рекомендованный Виноградским, содержащий в 1 л водопроводной воды: 1 г K_2HPO_4; 1 г $(NH_4)_2SO_4$; 0,5 г $MgSO_4$; 0,5 г NaCl и 20 г агар-агара.

После застывания агар подсушивается при 65—70° в сушильном шкафу в течение 10—15 минут. Затем на середину чашки вносится 0,05 мл тщательно перемешанной почвенной суспензии, которая шпателем равномерно распределяется по всей поверхности агара (почвенная

суспензия готовится в разведении $^1/_{10}$, $^1/_{100}$ или $^1/_{1000}$, в зависимости от количества микроорганизмов). Далее, кружки фильтровальной бумаги, или обеззоленные фильтры, простерилизованные в автоклаве, накладываются на поверхность агара и шпателем притираются так, чтобы везде плотно прилегали к ней.

Чашки необходимо сохранять во влажной камере при 25—26° в течение 1—2 недель и несколько дольше, при комнатной температуре; после этого производится учет различных микроорганизмов.

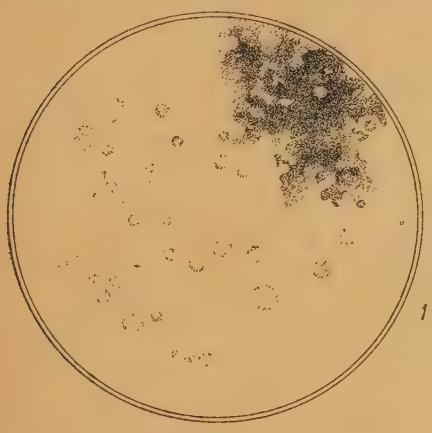


Рис. 1. Темносерая лесная почва (подстилка—0—4 см)

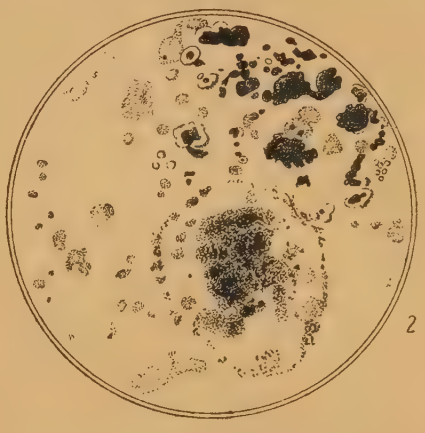


Рис. 2. Солонец под лесом (подстилка—0—7 см)

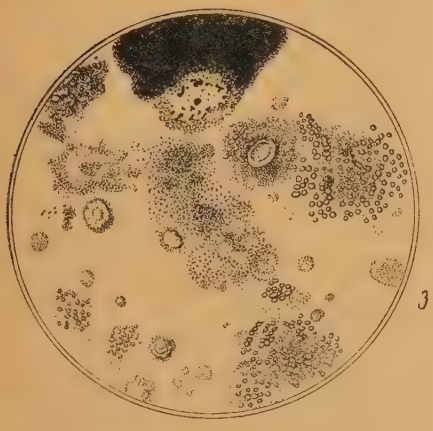


Рис. 3. Солонец под лесом (гор. А 7—8 см)

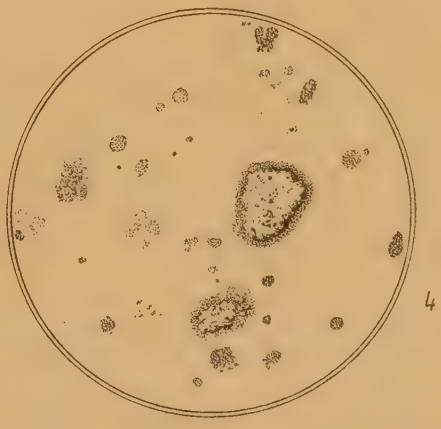


Рис. 4. Темносерая лесная почва (гор. А 4—10 см)

При таком посеве вырастают изолированные колонии грибов, бактерий и актиномицетов, которые очень легко подсчитать. В этих условиях легко определить и видовую принадлежность микроорганизмов, как это иллюстрируется на прилагаемых рисунках 1, 2, 3, 4. Преимущество этого метода перед принятым у нас методом комочков мы видим также в том, что учитываются истинные разрушители клетчатки, микроорганизмы, развивающиеся исключительно за счет самой клетчатки, а не за счет продуктов гидролиза клетчатки другими организмами, что часто имеет место при посеве комочками. В большинстве случаев в зоне одного комочка развивается несколько форм или групп микроорганизмов, что весьма затрудняет учет. Наш метод позволяет установить участие в разложении клетчатки таких микроорганизмов, которые методом комочков не выявляются, например актиномицетов. В качестве примера под-

счета микроорганизмов по описанному выше методу мы приводим данные одного анализа, проведенного в 1945 г. на образцах темносерых лесных почв Телермановского опытного лесничества Воронежской области. Данные таблицы показывают, что этим методом возможно установить весьма тонкие различия между отдельными образцами почвы.

Количество микроорганизмов, принимающих участие в разложении клетчатки в темносерой лесной почве, в тысячах на 1 г абсолютно сухой почвы

Место взятия образца	Глубина горизонта	Общее количество микроорганизмов	Количество			Характер рельефа
			бактерий	грибов	актиномицетов	
Пробная площадь № 2	0—4	108 000	40 000	57 000	11 000	Нагорное плато
„ „ № 2	4—10	3 920	3 560	360	0	„ „
„ „ № 2	10—20	1 100	800	300	0	„ „
„ „ № 2	20—30	1 180	800	240	140	„ „
„ „ № 3	0—4	154 000	136 000	10 000	8 000	Склон
„ „ № 3	4—10	1 400	600	420	380	„
„ „ № 3	10—20	380	360	20	0	„
„ „ № 3	20—30	840	600	140	100	„
„ „ № 6	0—4	57 000	11 000	24 000	22 000	Овраг
„ „ № 6	4—10	800	160	640	0	„

Следует отметить, что параллельные чашки дают весьма малые расхождения.

Выводы

На основании вышеизложенного мы считаем возможным рекомендовать описанный метод количественного учета микроорганизмов, принимающих участие в разложении клетчатки, для широкой проверки, чтобы внести его в качестве основного или дополнительного приема при изучении этой группы микроорганизмов.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 3. II. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградский С. Н. Микробиология почвы. Проблемы и методы. М., 1952.
2. Имшенецкий А. А. и Солнцева Л. И. Об аэробных целлюлозных бактериях. Изв. АН СССР, серия биол., № 6, 1115, 1936.
3. Имшенецкий А. А. и Солнцева Л. И. О миксобактериях, разлагающих клетчатку. Микробиология, VI, вып. 1, 1937.
4. Имшенецкий А. А. и Солнцева Л. И. Симбиоз целлюлозных и азотфиксирующих бактерий. Микробиология, IX, вып. 9—10, 1940.
5. Исаченко Б. и Вакенгут А. Несколько наблюдений над циклом развития организма, разлагающего клетчатку. Архив биол. наук, XXXII, вып. 5—6, 1932.
6. Омелянский В. Л. Практическое руководство по микробиологии. М.— Л., 1940.
7. Славнина Г. П. Характеристика аэробных целлюлозных бактерий томских почв. Тр. биол. научно-иссл. ин-та, Томский гос. ун-т им. В. В. Куйбышева, V (ботанический), 1, 1938.
8. Christensen H. R. Studien über den Einfluss der Bodenbeschaffenheit auf das Bakterienleben und den Stoffumsatz in Erdboden. Ztbl. Bakt., II Abt., 43, 90, 1915.

НАЛИЧИЕ АЗОТОБАКТЕРА В НЕКОТОРЫХ НЕОБРАБАТЫВАЕМЫХ ПОЧВАХ СЕВЕРНОГО ТАДЖИКИСТАНА

Б. Я. Танатин

Обширные пространства в Северном Таджикистане (Ленинабадская область, Тадж. ССР) занимают большие и малые горные хребты, главнейшими из которых являются Туркестанский, Могол-тау, Кураминские горы, Рухак (так называемая Дигмайско-Исписарская возвышенность), Ак-Чоп, Ак-Бель. Около них располагаются обширные предгорья. По своему характеру все эти территории можно отнести к каменисто-глинистой, в отдельных местах к глинистой полупустыне. Почвы здесь представлены главным образом различными сероземами (светлыми, темными и т. д.), которые во многом похожи на окультуренные сероземы. Они характеризуются бесструктурностью, большим содержанием глины и щебня, малыми количествами гумуса (всего 0,5—0,7%) и воды, но в них много кальция, почему они и имеют щелочную реакцию. В этих местах происходит резкая смена растительности в течение года: весной и осенью, когда выпадают осадки, много эфемеров и эфемероидов, а летом сохраняются только типичные ксерофиты. Среди этих массивов кое-где встречаются участки, напоминающие степи и небольшие луга, попадаются также разнообразные солончаки, солонцы и им подобные почвенные разности.

Все эти пока неиспользуемые под пашню пространства неуклонно осваиваются и в скором времени будут хорошо использованы. Это поведет к их резкому изменению, что сильно отразится на почвенной микрофлоре, в том числе и на азотобактере.

В необрабатываемых почвах Средней Азии азобактер имеется, но его мало, о чем говорят данные Шульгиной [9], Белякова [1, 2], Кузнецова [7], Рожковской [8], Кононовой [3, 4], Эфендиевой [10, 11] и других, нашедших его в разных местах Средней Азии. Некоторые исследователи (Красильников [6], Корсакова [5]) не нашли его здесь в девственных почвах, но отметили, что распашка, орошение этих почв и внесение в них удобрений ведут к появлению и сильному развитию в них азотобактера.

Своей задачей мы поставили изучение распространения этого микроба в некоторых необрабатываемых почвах Северного Таджикистана — в почвах Могол-тау, Ак-Чопа, Рухака и их предгорий, что было выполнено в течение четырех лет (с 1947 по 1950 г.). Было обработано около 100 образцов почвы, взятых в разных местах и в разные времена года.

Методика исследования. Чаще всего применялся метод Виноградского — наложение комочков почвы на кремнекислый гель в чашках Петри, пропитанный средой Эшби. По числу выросших колоний азотобактера мы судили об относительных количествах и распространении этого микроба в изучаемых почвах. Иногда готовились почвенные пластинки с внесением в них глицерина, фосфорнокислого калия и мела; производился также посев различных разведений в жидкую среду Эшби.

Результаты исследований

Сводная табл. 1 дает представление о распространении азотобактера в почвах типичной каменисто-глинистой и глинистой полупустыни и в ризосфере полупустынных растений.

Таблица 1

Результаты посевов комочков почв каменисто-глинистой и глинистой полупустыни по методу Виноградского

Дата взятия проб	Место взятия проб, почва, растение	Количество колоний азотобактера на 100 комочков почвы
	1. Почвы хребта Могол-тау	
20.III. 1948	Ущелье Сангиран-сай. Ризосфера полыни (Artemisia maritima s.l.)	13—14
	Там же. Вне ризосферы (контроль). Светлая суглинистая почва	0
	Там же. Ризосфера астрагала (Astragalus sp.)	12—14
	„ „ Вне ризосферы	0
	„ „ Дно высохшего потока	0
13.IV. 1947	У родника Дивана-Кудук. Голое место. Сухо	0
20.III. 1948	Ущелье Акджагарлык-сай. Ризосфера остринцы (Asperugo procumbens)	0
	Там же. Вне ризосферы. Почва сухая	0
	„ „ Дно высохшего потока	0
	Ущелье Кизбиви. Красная почва с большой примесью камней	0
	2. Полупустынное предгорье Могол-тау	
6.V. 1949	Ризосфера иссырыка. Почва сухая	0
	Вне ризосферы. Почва суглинистая с примесью камней	0
20.III. 1950	Ризосфера иссырыка. Почва увлажненная	2—3
	Вне ризосферы	0—1
30.VII. 1950	Ризосфера иссырыка. Почва сухая	0
	Вне ризосферы	0
0.II. 1950	Ризосфера гусиного лука (G. Olgae) Почва влажная	2—3
	Вне ризосферы	0—1
28.IV. 1947	Ризосфера биюргуна. После дождя	16—18
	Вне ризосферы	0—1
18.IX. 1943	Ризосфера нанофитона (Nanophyton erinaceum)	3—4
	Вне ризосферы	0
4.VI. 1947	Ризосфера каперсов. Почва сухая	0
	Вне ризосферы	0
17.VI. 1948	Ризосфера каперсов. Почва сухая	0
	Вне ризосферы	0
17.VII. 1948	Ризосфера зизифоры (Ziziphora tenuior)	0
	Почва очень сухая	0
	Вне ризосферы	0
	Ризосфера колючелистника (Acantophyllum pungens s. l.)	0
	Вне ризосферы	0
	Ризосфера парнолистника (Zygophyllum fabago)	
	Вне ризосферы	0

Таблица 1 (продолжение)

Дата взятия проб	Место взятия проб, почва, растение	Количество колоний азотобактера на 100 комочков почвы
30.VII.1950	Плотная глинистая почва. Очень сухая	0
17.VIII.1950	То же	0
	3. Почвы хребта Ак-Чопа и его окрестностей	
	Северный склон. Ризосфера солянки (Salcola arbuscula). Почва сухая, много гипса	0
	Там же. Вне ризосферы	0
31.V. 1947	У геодезического знака. В почве много гипса. Очень сухо	0
	Предгорье. Ризосфера нанофитона. Почва сухая	0
	Там же. Вне ризосферы	0
28.III. 1948	Ризосфера катрана. Почва увлажнена	5—6
	Вне ризосферы	0—1
	4. Полупустыня у кишлака Самгар (Ленинабадский район)	
	Ризосфера полыни (A.maritima s.l.)	15
	Вне ризосферы	0—1
20.III. 1947	Ризосфера парнолистника (Z. fabago). Почва увлажнена	1—2
	Вне ризосферы	0—1
	5. Почвы Рухака	
	Ложбина. Ризосфера иссырыка. Увлажнение почвы слабое.	0—1
	Вне ризосферы	0
27.V. 1947	Дно высохшего потока	0
	Ризосфера парнолистника (Z. atriplecoides) . . .	0—1
	Вне ризосферы	0
	Ризосфера солянки неизвестной	0
	Вне ризосферы	0
	6. Глинистая полупустыня у Костакозских холмов	
10.III. 1948	Ризосфера осоки пустынной (Carex pachystylis) .	3
	Вне ризосферы. Почва увлажнена	0—1
22.V. 1948	Ризосфера полыни (A. maritima s. l.)	5—4
	Вне ризосферы	0
	Ризосфера кельпинин (Koelpinia linearis) засыхает	0—1
	Вне ризосферы	0

Как видно из данных таблицы, азотобактер в исследованных почвах распространен довольно слабо и неравномерно. В местах, не занятых растениями, он отсутствует или встречается в малых количествах.

В ризосфере многих растений этой зоны, например колючелистника, зизифоры, солянки и пр., азотобактер не был обнаружен. Но под отдельными растениями, например под полынью, биюргуном, он присутствует иногда в больших количествах.

Отмечая слабое распространение азотобактера в почвах полупустыни, следует обратить внимание на то, что неокультуренные сероземы являются хорошим местообитанием азотобактера и главнейшим препятствием для размножения в них этого микроба является недостаток воды. В периоды выпадения осадков азотобактер здесь размножается, с наступлением же засушливого лета его количество сильно сокращается. В этот период отрицательные результаты дают не только посевы на гель, но и другие методы исследования, например метод почвенных пластинок, посевы в жидкие среды и т. д. Все это подтверждается данными многих анализов, особенно посевом проб из-под иссырыка и нанофитона на гель.

В полупустынях, особенно на плоскогорьях и пологих склонах гор, иногда встречаются участки, сравнительно густо покрытые травой, состоящей главным образом из различных злаков, среди которых доминирует мятлик клубненосный (Poa bulbosa). Эти участки, являются хорошими пастбищами для скота; они напоминают степи, тем более, что на них встречаются ковыли (Stipa Hohenackeriana, S. Lessingiana). Но здесь растет немало и типичных полупустынных форм вроде полыни и солянок.

Таблица 2

Результаты анализов проб со „степных" участков

Дата взятия проб	Место взятия проб, почва, растение	Количество колоний азотобактера на 100 комочков почвы
9.IV. 1947	Могол-тау. Небольшое плато. Злаки с примесью осоки. Суглинистый серозем. Почва сухая . .	0
4.V. 1947	Там же. Красная долина. Та же формация и те же почвы, небольшое увлажнение	1—2
5.III. 1948	Там же. Сингиран-сай. Крохотный участок со злаками и осокой	0
20.III. 1948	Там же, то же	0
19.IV. 1948	Светлый суглинистый серозем	0
31.V. 1947	Окрестности кишлака Самгара. Ризосфера мятлика (Poa bulbosa)	0—1
19.VI. 1947	Окрестности кишлака Шуркуля. Дернина злаков. Выедено скотом.	0
10.V. 1948	Окрестности кишлака Аучи. Разные злаки. Ризосфера тонконога (Koeleria sp.)	0—1
9.V. 1948	Там же. Разные злаки. Сероземы с большой примесью глины.	0
22.VI. 1948	Там же. То же. Почва очень сухая	0
10.VI, 1950	Окрестности кишлака Калача. Дернина высоких злаков и осоки. Светлый суглинистый серозем.	1—2
	Там же. Ризосфера ковыля (Stipa Hohenackeriana). Суглинистый чернозем	0—1
	Там же. Вне ризосферы	0
	„ „ Ризосфера мятлика	0—1
	„ „ Около госпитомника. Дернина высохших злаков	0

Для этих участков трудно подобрать точное название, и мы условно будем именовать их «степными». Выше приводятся данные о наличии азотобактера в почвах с этих участков (табл. 2).

Суммируя данные, можно сделать вывод, что азотобактер под растениями «степной» формации Северного Таджикистана распространен очень слабо. Он встречается здесь редко и преимущественно в те моменты, когда почва увлажнена. Повидимому, ограничивающими факторами его развития в этих местах является недостаток воды в почве и природа растений. Следует отметить, что почвенные пластинки дают несколько лучшие результаты, чем посевы почвы комочками на гель, на гипсовые пластинки и в жидкую среду Эшби. При микроскопировании препаратов, приготовленных из колоний, всегда можно было видеть округлые парные клетки, типичные для азотобактера.

В долине Сыр-Дарьи, Ходжа-Бакирган и других рек, а также на поливных землях и у источников встречаются участки, густо покрытые травой, хорошо растущей благодаря увлажнению. Почвы здесь представлены преимущественно светлыми сероземами, в которых гумуса несколь-

Таблица 3

Результаты анализов почв „луговых" участков

Дата взятия проб	Место взятия проб, почвы, растение	Количество колоний азотобактера на 100 комочков почвы
19.IV. 1947	Могол-тау. Киз-биви. У источника, много мятлика и осоки. Почва увлажнена хорошо. Ризосфера мятлика (Poa pratensis)	0
	Там же. Ризосфера осоки (Carex sp.)	0
18.V. 1947	Берег Сыр-Дарьи. Роща. „Лужайка" из злаков (выедено скотом)	0
13.V. 1947	Там же. Голое место. Суглинистый серозем. Почва сухая	0
19.VI. 1947	Окрестности кишлака Самгар. Смесь бобовых и злаков. Почва увлажнена незначительно . .	1
21.VI. 1947	Колхоз им. Микояна. Ризосфера лядвенца (Lotus Krylovii)	5—6
1.VII. 1947	Там же, тоже	6—7
	Там же. Ризосфера злака (не определен)	0
2.VI. 1948	Долина р. Ходжа-Бакирган. Смесь злаков, бобовых и др.	1—2
15.VI. 1948	Там же. Ризосфера клевера лугового (Trifolium pratensis)	8
	Там же. Ризосфера клевера белого (T. repens)	14—18
	Там же. Ризосфера люцерны маленькой (Medicago minima)	13
	Там же. Вне ризосферы (контроль предыдущих) .	0—1
30.VII. 1950	Берег Сыр-Дарьи. Дернина злаков, почва увлажнена хорошо	1—3
	Там же. Ризосфера клевера белого	9
	Там же. Около „лужайки". Почва очень сухая, вне ризосферы	0

ко больше, чем в предыдущих почвенных разностях (поэтому они несколько темнее). По своему характеру они очень разнообразны, их трудно классифицировать, поэтому мы чисто условно именуем их «луговыми» участками, так как они несколько напоминают луга. Почвы были взяты главным образом из-под растений, типичных в этих местах; данные о наличии азотобактера в этих почвах приведены в табл. 3.

Приведенные данные показывают, что азотобактер в почвах с «луговой» растительностью распространен слабо. Это зависит прежде всего от природы растения и уже потом от увлажнения этих почв. Под представителями семейства бобовых азотобактера довольно много, а под злаками очень мало или совсем нет. В местах, где почвы были сухими, он вообще отсутствовал.

Результаты микроскопирования препаратов из колоний с геля и почвенных пластинок, а также характер роста этих колоний, пигментация и другие признаки, заставляют считать, что во всех исследованных почвах распространен Azotobacter chroococcum.

Выводы

1. Прозводилось изучение распространения азотобактера в почвах хребтов и возвышенностей Могол-тау, Ак-Чопа, Рухака и их предгорий, входящих в зону каменисто-глинистой полупустыни.

2. Исследованные почвы представлены различными сероземами с примесью большого количества глины и щебня. Азотобактера в них мало и расселен он здесь редко; встречается главным образом в ризосфере некоторых растений и в местах, содержащих некоторый запас воды. В почвах с участков, условно называемых «степными» и «луговыми», его тоже мало. Под различными растениями он находится в различных количествах, что зависит главным образом от природы растения.

3. Важнейшим фактором, лимитирующим распространение азотобактера в изучаемых почвах, является недостаток воды.

4. Культуральные особенности заставляют предполагать, что во всех исследованных почвах присутствует один вид азотобактера, а именно — Azotobacter chroococcum.

Ленинабадский государственный педагогический институт имени С. М. Кирова

Получено 7. VI. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляков Е. В. Влияние поглощенного калия на фиксацию азота азотобактером. Изд. АН Каз. ССР, серия физиол. и биохим. растений, 39, вып. 2, 1947.
2. Беляков Е. В. Распространение азотобактера в целинных и культурных почвах пустынной и степной зонах Центрального Казахстана. Изд. АН Каз. ССР. Серия освоения пустынь, 75, вып. 1, 49, 1949.
3. Кононова М. М. К вопросу о распространении и функциях Azotobacter chroococcum в почвах Голодной степи. Бюлл. Ср.-Азиатского ун-та, вып. 9, 1925.
4. Кононова М. М. Микробиологическая характеристика почв некоторых районов Средней Азии. Тр. Ак.-Кавакской опытно-оросительной станции, вып. 7, 39, 1929.
5. Корсакова М., Былинкина В. и Никитина Е. Исследования по биодинамике почв. VIII. Микробиологическая характеристика почв пустынно-степной зоны. Тр. отдела с.-х. микробиологии Гос. ин-та опытн. агрономии, II, 77, 1927.
6. Красильников Н. А. Микробиологические основы бактериальных удобрений. Изд. АН СССР, М.—Л., 80 стр., 1945.
7. Кузнецов С. И. Микробиологическое обследование почв Фрунзенской зональной опытной станции НИХИ, Тр. научного ин-та по удобрениям, II, вып. 108, 1933.
8. Рожковская. Влияние обработки сельскохозяйственных культур на микробиологические процессы в почвах степной зоны. Сб. авторефератов ВИУАА, 1936.
9. Шульгина О. Г., Берсенева А. В. и Норкина А. С. Материалы к микробиологической характеристике почв Туркестана. Тр. Ин-та с.-х. микробиологии, IV, вып. 2, 2, 1930.
10. Эфендиева С. А. Упрощение методики почвенных пластинок для культивирования азотобактера. Микробиология, XI, вып. 5—6, 207, 1942.
11. Эфендиева С. А. Установление засоленности почв при помощи азотобактерной пробы. Микробиология, XIII, 147, 1944.

МИКРОФЛОРА РИЗОСФЕРЫ КОК-САГЫЗА

Е. А. Ворошилова

Исследования советских авторов (Красильникова [5], Исаковой [4], Березовой [11]) показали, что в почвах в непосредственной близости от корневой системы растений накапливается огромное количество микроорганизмов. Растения отбирают из почвенного микробного комплекса определенные группы и виды микроорганизмов. При этом растения являются фактором не только отбора, но и изменчивости почвенных микроорганизмов [2].

Наиболее изучена микрофлора ризосферы бобовых, злаковых и некоторых технических культур [1, 3, 5].

В данной работе мы исследовали микрофлору ризосферы кок-сагыза, как растения, хорошо растущего в гнездовых посевах и накапливающего в своих корнях инулин и каучук.

Исследования проводились на экспериментальной базе Украинского научно-исследовательского института соцземледелия на луговом черноземе и окультуренном торфянике. В период вегетации кок-сагыза учитывалось количество аммонифицирующих, нитрифицирущих, денитрифицирующих бактерий, уробактерий и азотобактера в почве междурядий и в прикорневой зоне. Аммонификаторы определялись на 2%-й пептонной воде, уробактерии — на жидкой среде Рубенчика, нитрификаторы — на жидкой среде Виноградского, денитрификаторы — на жидкой среде Гильтая (по газообразованию), азотобактер — на агаризованной среде Эшби.

Анализировалась почва под посевами кок-сагыза без удобрений и с внесением органо-минеральных удобрений на луговом черноземе, фосфорно-калийных удобрений — на торфянике. Количество аммонификаторов, уробактерий, нитрификаторов и денитрификаторов в почве междурядий определялось методом разведений в пересчете на 1 г абсолютно сухой почвы.

В прикорневой зоне кок-сагыза количество почвы в 1 г корней определялось по разности веса абсолютно сухих корней до отмыва и после отмыва в параллельной навеске. Количество микроорганизмов определялось методом разведения и пересчитывалось на 1 г почвы. Данные количественного подсчета микроорганизмов указанных физиологических групп приведены в таблице.

Аналогичные данные по подсчету указанных физиологических групп бактерий были получены и в 1951 г.

Как видно из таблицы, количество аммонификаторов в почве прикорневой зоны кок-сагыза превосходило их количество в почве междурядий в десятки и сотни раз.

Увеличение количества уробактерий в прикорневой зоне кок-сагыза по сравнению с почвой междурядий отмечалось не во все сроки наблюдений. 25.X было уробактерий в прикорневой зоне варианта с удобрениями даже меньше в 2,32 раза, чем в почве междурядий.

Количество денитрификаторов в прикорневой зоне в большинстве случаев превосходило их количество в почве междурядий в десятки и сотни раз.

На количество азотобактера кок-сагыз не оказал заметного действия. В наших опытах не наблюдалось резкого различия в количестве бак-

Число бактерий на 1 г абсолютно сухой почвы

Почвенная разность	Варианты опыта	1950 г. даты наблюдения	Почва междурядий					Прикорневая почва				
			аммонификаторы в млн.	уробактерии в ед.	нитрификаторы в ед.	денитрификаторы в тыс.	азотобактер в ед.	аммонификаторы в млн.	уробактерии в ед.	нитрификаторы в ед.	денитрификаторы в тыс.	азотобактер в ед.
Луговой чернозем	Без удобрений	10/V	1,20	12,0	12,0	1,20	120	10,0	100,0	100,0	100,0	305
		29/VI	1,13	—	11,0	11,36	125	50,0	—	500,0	5 000,0	92
		1/VIII	0,11	12,0	12,0	11,76	93	50,0	500,0	500,0	5 000,0	198
		8/IX	0,11	11,0	11,0	114,94	15	5,0	500,0	500,0	500,0	9
		25/X	0,12	12,0	—	120,0	5	6,25	—	62,5	625,0	4
	С удобрениями	10/V	1,20	12,0	—	1,20	28	10,0	100,0	—	100,0	305
		29/VI	11,40	11,0	114,0	114,90	192	100,0	1 000,0	1 000,0	10 000,0	128
		1/VIII	0,11	12,0	119,0	119,0	211	100,0	1 000,0	100,0	10 000,0	294
		8/IX	0,11	113,0	113,0	113,6	25	10,0	100,0	1 000,0	1 000,0	21
		25/X	1,16	116,0	—	116,0	11	50,0	500,0	500,0	500,0	3
Торфяник	Без удобрений	19/V	0,18	1 850,0	1 850,0	18,5	127	10,0	1 000,0	1 000,0	10,0	127
		8/VII	0,20	200,0	—	20,0	120	30,3	303,0	303,3	30,0	120
		10/VIII	1,88	188,0	188,0	18,8	24	100,0	1 000,0	1 000,0	1 000,0	25
		22/IX	0,18	—	—	18,18	9	50,0	—	—	5 000,0	2
		20/X	0,01	1 818,0	—	18,18	—	10,0	1 000,0	—	1 000,0	6
	С удобрениями	19/V	1,08	1 085,0	1 085,0	10,85	18	10,0	1 000,0	1 000,0	100,0	72
		8/VII	1,78	178,0	—	17,85	71	100,0	1 000,0	100,0	100,0	53
		10/VIII	1,92	192,0	192,0	19,23	17	100,0	1 000,0	1 000,0	100,0	15
		22/IX	19,60	196,0	1 960,0	19,60	—	50,0	500,0	5000,0	5 000,0	—
		10/X	1,81	1 818,0	—	18,18	12	10,0	10 000,0	—	1 000,0	15

Примечание. Округлены цифры по количеству уробактерий и нитрификаторов

терий по типу почвы (торфяник и луговой чернозем). В некоторые сроки наблюдений на торфянике в ризосфере кок-сагыза насчитывалось больше уробактерий и нитрификаторов, чем на луговом черноземе.

На агаризованной среде, приготовленной из отвара корней кок-сагыза и почвенной вытяжки из-под его корней, мы выделяли чистые культуры преобладающих видов микроорганизмов почвы междурядий и прикорневой зоны, а затем определяли микроорганизмы по определителю.

В почве междурядий преобладали спороносные бактерии: Bac. mesentericus, Bac. mycoides, Bac. subtilis.

В ризосфере кок-сагыза нами найдены микрококки, проактиномицеты, актиномицеты, микобактерии, неспороносные и спороносные бактерии. Из них преобладающими являются неспороносные бактерии из рода Pseudomonas, принадлежащие главным образом к аммонификаторам и денитрификаторам. Из спороносных форм обнаруживался в ризосфере Bac. megatherium во все сроки наблюдений.

Выводы

1. Корневая система кок-сагыза оказывает стимулирующее действие на развитие аммонификаторов и денитрификаторов.

2. В ризосфере кок-сагыза преобладают неспороносные бактерии из рода Pseudomonas. Большинство из них принадлежит к аммонификаторам и денитрификаторам.

Киевский государственный университет

Получено 29. I. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березова Е. Ф. Микрофлора ризосферы льна. Тр. Всесоюзного научно-иссл. института с.-х. микробиологии за 1941—1945 гг. Сельхозгиз, 70, 1949.
2. Березова Е. Ф. Взаимоотношения растений с микрофлорой почвы, Агробиология, № 5, 73, 1950.
3. Жуковская П. Н. и Теппер Е. З. Изучение микрофлоры ризосферы овса, клевера и картофеля методом последовательных отмываний корней. Тр. Московской ордена Ленина сельскохозяйственной академии им. К. А. Тимирязева, вып. 41, 54, 1949.
4. Исакова А. А. Отбор корнями растений специфической микрофлоры из почвенного микробного комплекса. ДАН СССР, XXV, № 4, 317, 1939.
5. Красильников Н. А. Влияние растительного покрова на микробный состав в почве. Микробиология, XIII, 187, 1944.

ЗНАЧЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПИТАНИИ NEREIS SUCCINEA КАСПИЙСКОГО МОРЯ

А. И. Жукова

Содержание микроорганизмов в воде и грунтах водоемов очень велико, поэтому изучение их роли в питании водных беспозвоночных имеет большое теоретическое и практическое значение. Усваиваются ли бактерии, заглоченные животными,— вопрос, интересовавший многих исследователей за последние 30 лет. Особенно большую работу в этом направлении провели советские ученые Гаевская [2] и Родина [5], которые разработали методику получения бактериологически стерильных беспозвоночных животных и провели опыты по кормлению этих животных различными культурами микроорганизмов. В результате своих экспериментов Родина [5] пришла к выводу, что бактерии являются необходимым компонентом пищи планктонных рачков Daphnia magna. Поедая некоторые культуры микроорганизмов, рачки не только жили, но и давали потомство.

Гаевская [3] установила, что дафнии не могут существовать без бактерий, даже при обилии другого корма.

Таким образом, в опытах со стерильными животными Гаевской и Родиной доказано, что микроорганизмы представляют собой важный компонент пищи пресноводных беспозвоночных. Работы зарубежных ученых (Zobell [9], Stuart [8] и др.) также констатируют определенное значение бактерий в питании водных беспозвоночных животных.

Данная статья представляет собой часть наших исследований, имеющих целью выяснить роль микроорганизмов как звена в пищевой цепи Каспийского моря. Мы хотели установить, что в природных условиях этого водоема бактерии заглатываются и перевариваются беспозвоночными животными.

В качестве первого объекта исследования был избран многощетинковый червь Nereis succinea, обитающий после акклиматизации в Каспийском море в значительных количествах и являющийся кормом ценных промысловых рыб. Нереис — грунтоед, т. е., питаясь, он заглатывает и пропускает через свой кишечник верхний слой грунта. Это было доказано в работах Яблонской [7], любезно предоставившей нам материал для исследования. Нами изучались черви, добытые Яблонской из лагун у острова Тюленьего. Животные в момент вылова фиксировались 10%-ным формалином. Для анализа отбирались особи приблизительно одного возраста, 4—5 см длиной. Затем под бинокуляром тщательно, не нарушая целостности, отпрепаровывался кишечник, наполненный пищей, заглоченной в естественных условиях. Такой отпрепарованный кишечник делился на три равных участка по своей длине: передний, средний и задний. Из содержимого каждого отдела кишечника бралась навеска на торзионных весах и приготовлялись препараты для прямого счета микроорганизмов по несколько измененной методике Виноградского. Окраска производилась 5%-ным карболовым эритрозином. Просчеты препаратов велись при увеличении микроскопа 1050 в 50 полях зрения. Вся операция изготовления препаратов производилась с соблюдением условий стерильности. Полученные результаты пересчитывались на единицу веса содержимого кишечника. Подобным образом было проанализировано 52 червя, из них 27 изучались по 1 экземпляру, а затем

были проведены 3 групповых анализа по 7, 8 и 10 червей суммарно для получения средних цифр.

В 27 случаях из 30 выявлялась одна и та же закономерность: число бактериальных клеток, приходящихся на 1 г содержимого кишечника, уменьшалось от переднего отдела к среднему и увеличивалось к заднему отделу. Выразив графически цифры, полученные на основании всех проделанных анализов, получаем кривую, характеризующую ход переваривания бактерий в кишечнике (рис. 1).

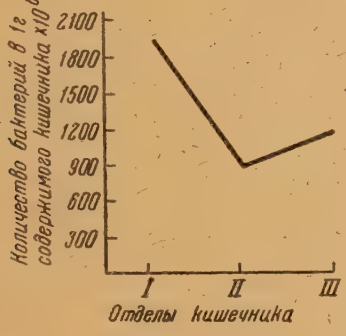


Рис. 1

Рис. 2. *1*—колонии кокков; *2*—колонии палочек

Просчитывая на тех же препаратах количество микробных клеток, сгруппировавшихся в виде небольших колоний, удалось заметить ту же закономерность: число микроколоний в содержимом кишечника уменьшается от его переднего отдела к среднему и увеличивается к заднему отделу. Выраженные графически, полученные средние цифры дают картину, аналогичную предыдущей (рис. 2).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что переваривание заглоченных нереисом бактерий происходит в переднем и среднем отделах кишечника. В заднем отделе кишечника влияние пищеварительных энзимов, повидимому, ничтожно, и неусвоенные в переднем отделе микроорганизмы получают возможность размножаться. Приведенные кривые позволяют внести поправку в имевшееся ранее представление о перевариваемости микроорганизмов беспозвоночными животными. Так, Родина [4], изучая бактериальное питание пресноводных моллюсков, принимала, что усваивается то количество бактерий, которое исчезает из окружающей моллюска воды, т. е. за усвоение она принимала разницу между количеством бактерий в воде после дачи корма и таковым же через сутки. Если бы бактериальное питание нереиса изучалось аналогично, то мы получили бы значительно преуменьшенные данные, искажающие явление, происходящее в действительности. Количество усвоенных червем бактерий в полтора раза больше, чем уменьшение числа микроорганизмов в фекалиях по сравнению с заглоченной пищей.

Зная, какое количество микроорганизмов переваривается из каждого 1 г заглоченной червем пищи, и учитывая размер суточного пищевого рациона нереиса исследуемого возраста, можно рассчитать бактериальный суточный рацион. При этом, исходя из среднего размера бактериальных клеток и принимая их удельный вес за единицу, можно установить, что бактерии, составляющие суточный рацион Nereis succinea исследуемого возраста, весят 0,4 мг.

Суточный прирост азота в теле червя составляет 0,04 мг (по данным Яблонской [7]). Бактериальная клетка содержит 12,3% азота (от сухого веса, по Федорову [6]). Сделав соответствующие вычисления, получаем, что около 30% суточного прироста азота в теле нереиса обеспечивается

микроорганизмами. По данным Бирштейна и Спасского [1], общая биомасса Nereis succinea на всей акватории Северного Каспия в июне 1949 г. составляла $1{,}4 \cdot 10^6$ ц. Легко подсчитать, что за одни сутки все черви, населяющие Северный Каспий, способны усвоить огромное количество микроорганизмов весом 3500 ц.

Выводы

1. Бактерии в большом количестве заглатываются вместе с другими компонентами пищи червем-грунтоедом Nereis succinea.
2. Микроорганизмы пищевого комка изменяются в числе по мере продвижения по кишечнику, перевариваясь в передних отделах и увеличиваясь в количестве к заднему отделу.
3. Количественно-весовой метод учета микроорганизмов позволяет вычислить бактериальный суточный рацион Nereis succinea.
4. Приведенные данные доказывают роль микроорганизмов грунта Каспийского моря как звена пищевой цепи.

Всесоюзный научно-исследовательский институт морского рыбного хозяйства и океанографии. Москва

Получено 14. IV. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бирштейн Я. А. и Спасский Н. Н. Донная фауна Каспийского моря до и после вселения Nereis succinea. Материалы к познанию фауны и флоры, изд. Моск. об-вом испытат. природы, нов. сер., отдел зоол., вып. 33, 1952.
2. Гаевская Н. С. О некоторых новых методах в изучении питания водных организмов. Зоологический журнал, XVII, вып. 6, 1938.
3. Гаевская Н. С. О методах выращивания живого корма для рыб. Тр. Моск. технич. ин-та рыбной промышленности и хозяйства им. А. И. Микояна, вып. 3, 1940.
4. Родина А. Г. Бактерии как пища пресноводных моллюсков. Микробиология, XVII, вып. 3, 1948.
5. Родина А. Г. Роль бактерий и дрожжевых грибков в питании Cladocera (Daphnia magna). Тр. Зоол. ин-та, VIII, вып. 3, 1948.
6. Федоров М. В. Микробиология. Сельхозгиз, 1949.
7. Яблонская Е. А. Питание Nereis succinea Каспийского моря. Материалы к познанию флоры и фауны, издаваемые Моск. об-вом испытат. природы, нов. сер. отд. зоол., вып. 3, 1952.
8. Stuart C. A., McPherson M. a., Cooper H. J. Studies of bacteriologically sterile moina Macrocopa and their food requirments. Physiol. Zoology, IV, No. 1, 1931.
9. Zobell C. E. a. Feltham C. B. Bacteria as food for certain marine invertebrates, J. Marine Res., 1, No. 4, 1937.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОЛИЧЕСТВА САПРОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ В ДАЛЬНЕМ ОЗЕРЕ

Е. М. Крохин

Биологической особенностью тихоокеанских лососевых из рода Oncorhynchus является поголовная гибель всех производителей после нереста. Один из видов этого рода — красная или нерка (O. nerka) нерестует во многих озерах бассейна северной части Тихого океана и, в частности, в ряде озер Камчатки. В 1932 г. Джеди (Juday [6]) высказал гипотезу, по которой трупы погибшей после нереста O. nerka являются своеобразным удобрением для нерестовых озер, повышающим в них продуктивность планктона. Так как озера являются не только нерестилищами красной, но и выростными водоемами для ее молоди, питающейся планктонными ракообразными, то доказательство этого предположения является существенно важным.

При минерализации в озерах трупов рыб, погибших после нереста, должно произойти значительное увеличение количества биогенных элементов — азота и фосфора. Учитывая содержание фосфора в теле красной, можно рассчитать, что после полной минерализации трупов рыб количество фосфора в воде такого водоема, как Дальнее озеро, может возрасти на 10—20 мг/л P_2O_5. Однако многие анализы, произведенные нами в Дальнем озере на минеральный и общий фосфор, не подтвердили этого, очевидно, вследствие медленности процесса регенерации и быстрого потребления регенерируемого фосфора. Представляло большой интерес выяснить, как влияет внесение в озеро большого количества легкоусвояемого вещества в виде трупов рыб на общее количество сапрофитных бактерий. Чтобы это проверить, было решено изучить сезонный ход вертикального распределения общего количества бактерий в Дальнем озере. Количество рыб, нерестящихся в озере, изменяется из года к году, следовательно, меняется и количество вносимого в озеро органического вещества, поэтому исследования были проведены в течение трех смежных лет. Полученные при этом данные послужили материалом для настоящей статьи.

Дальнее озеро принадлежит к бассейну р. Паратунки, впадающей в Авачинскую бухту.

Озеро богато биогенными элементами. Так, количество фосфатов в виде P_2O_5 в период осенней циркуляции составляет 110—120 кг/м³. Во время летней стагнации в эпилимнионе фосфаты могут быть полностью потреблены, а в нижних слоях гиполимниона накопляются до 200—250 мг/м³. Количество органического фосфора в эпилимнионе Дальнего озера обычно не превышает количества минерального, а в гиполимнионе падает до нуля. Количество нитратного азота в период осенней циркуляции равно 500 мг/м³. Во время летней стагнации в эпилимнионе содержание нитратов понижается до 5—10 мг/м³ ($N — N_2O_5$); в гиполимнионе, на расстоянии около 10 м от дна, количество нитратного азота возрастает до 1000 мг/м³, а глубже снова падает до 260—300 мг/м³. В слое температурного скачка летом наблюдается хорошо выраженный нитритный максимум до 6—7 мг/м³ $N — _2$[1]. Минеральный

[1] Позже, в сентябре, в термоклине ежегодно наблюдается минимум кислорода.

аммиак в слое от 0 до 50 м колебался в пределах 5—30 мг/м³ N — NH_3; кроме того, в воде Дальнего озера было обнаружено от 200 до 400 мг/м³ азота альбуминного аммиака, причем, как правило, поверхностные слои были богаче им, чем глубинные. На основании этих данных, количество общего азота в воде Дальнего озера можно оценить в 800—1300 мг/м³.

В фитопланктоне Дальнего озера основную роль играют диатомовые (Synedra, Cyclotella, Nitschia) и протококковые (Gloeococcus Schroeteri); в меньшем количестве встречаются синезеленые (Microcystis pulvera). Общее количество фитопланктона по тотальным ловам планктонными сетями (0—55 м) достигает в среднем 150—200 экз/л. Однако в верхних слоях (0—5 м) численность фитопланктона значительно выше (например, количество Nitschia доходит до 50 000 в 1 л, Gloeococcus — до 7000 экз., Microcystis — свыше 4000 экз. в 1 л). Многолетний средний «сырой» объем планктона для периода июнь — ноябрь равен 3,56 см³/м³. Продукция фитопланктона, вычисленная по потреблению биогенных элементов за период вегетации, колеблется от 13 до 22 мг/л сухого вещества диатомей, составляя в среднем 17,3 мг/л.

Влияние большого количества отмершей рыбы на биогенный баланс Дальнего озера можно оценить, исходя из следующих соображений. Содержание P_2O_5 нерестующей нерки составляет около 0,26% [1]. Принимая средний многолетний пропуск производителей O. nerka в Дальнее озеро равным 52,5 тысяч шт. при среднем весе 1,88 кг, получим, что с нерестующей рыбой в озеро ежегодно вносится в среднем около 250 кг P_2O_5. Общее количество растворенного фосфора в водной массе Дальнего озера равно приблизительно 5500 кг P_2O_5; следовательно, количество фосфора, ежегодно вносимое рыбой, составляет около 5% от общего его запаса в водной массе озера. Этим создается положительный баланс фосфора в нерестовом озере. Поскольку накопление фосфора в водной массе Дальнего озера не замечается и в среднем общее его количество остается более или менее стабильным, следует предполагать, что избыток фосфора выпадает из водной массы и, вероятно, накопляется в донных отложениях озера. В настоящее время не представляется возможным более подробно разобраться в этом вопросе, так как пути миграции фосфора от трупов рыб к водной массе и донным отложениям, несомненно, очень сложны и во многом не ясны.

Методика

Пробы воды для бактериологических исследований, извлеченные из озера батометром международного образца, переливались в стерильные бутылки; немедленно после доставки проб на берег производился посев на мясо-пептонный агар, по 1 мл воды на чашку Петри. Чашки помещались в термостат при 37°; через два дня производился счет колоний. Пробы брались приблизительно раз в месяц; в период с конца сентября 1944 г. по конец июля 1947 г. было взято 17 серий проб.

Результаты подсчетов бактерий

Найденные в Дальнем озере количества бактерий представлены в таблице. Количество бактерий не превышало 271 в 1 мл; обычно оно было меньше 100 в 1 мл и для большинства серий в среднем для всего столба воды (0—56 м) равнялось 20—30 в 1 мл. Максимальное количество бактерий приходилось на весну (май). Во все другие периоды количество бактерий было значительно меньше.

При сравнении количества бактерий в Дальнем озере с их количествами в Глубоком озере, по данным Кузнецова [2] и в Онежском озере, по Салимовской-Родиной [5], найденными тем же методом агаровых пластинок, видно, что для всех трех озер были получены цифры одного

порядка: количество бактерий обычно не превышало 100 в 1 мл. Но оно гораздо ниже количества бактерий, обнаруживаемых методом прямого счета [3]. Это вполне согласуется с указанием Кузнецова о том, что количество бактерий, найденное прямым методом, бывает в 100—1000 раз больше, чем обнаруживаемое методом агаровых или желатиновых пластинок [4].

Основная масса бактерий была сосредоточена в верхних 20 м озера; глубже количество бактерий довольно резко падало. Сходное распределение бактерий по вертикали нашла Салимовская-Родина в Онежском озере [5].

28 сентября 1944 г. и 28 октября 1945 г. наблюдался максимум бактерий в области температурного скачка; этот максимум совпадал с минимумом кислорода в этом же слое.

Сопоставление между собой количества бактерий в 1945 и 1946 гг. показывает, что существенной разницы между ними нет; это соответствует незначительной разнице в количествах производителей O. nerka в Дальнем озере за те же годы (соответственно 63 и 55 тыс. шт.).

Общее количество бактерий в воде Дальнего озера в единицах на 1 мл

Глубина в м	1944 г.		1945 г.								1946 г.					1947 г.	
	28.IX	15.XI	7.V	15.VI	1.VIII	10.VIII	15.IX	27.X	15.XI	22.IV	12.VI	22.VII	21.VIII	1.X	24.X	27.VI	29.VII
0	86	42	244	16	7	1232?	59	8	15	16	82	49	98	48	64	16	31
5	65	9	232	17	4	23	13	21	14	12	14	23	5	31	21	14	21
10	61	21	79	17	18	21	14	44	54	27	27	23	7	38	27	23	17
15	104	—	—	—	3	35	7	33	82	8	26	47	9	4	22	—	15
20	50	13	95	22	12	41	11	19	11?	14	6	5	0	19	24	13	41
30	29	5	162	—	95	18	22	12	114	11	86	9	—	11	11	17	10
40	18	2	139	13	—	54	18?	5	41	8	37	3	7	20	16	26	18
50	21	5	265	—	—	534?	77	7	7	7	11	17	33	16	1	11	29
56	11	5	271	18	—	20	9	14	48	2	16	25	7	5	—	18	46

Сравнение количеств бактерий в верхних 20 м до начала нереста и в начале нереста (август, сентябрь), и в конце нереста и после нереста (октябрь, ноябрь) как будто указывает на возрастание их числа в конце нерестового периода и после него; однако это увеличение выражается незначительными величинами.

Таким образом, полученные для Дальнего озера данные говорят о том, что отмирание значительного количества отнерестовавшей рыбы мало сказывается на общей численности сапрофитных бактерий. Однако общее количество биогенных элементов здесь достаточно высоко. Можно предположить, что эти два явления связаны, с одной стороны, со значительным перемешиванием воды в посленерестовый период, а также с медленностью самого распада при низких температурах, наблюдающихся в озере в этот период.

Выводы

Количество сапрофитных бактерий, обнаруженное в Дальнем озере методом агаровых пластинок, сходно с найденными тем же методом в других озерах и отмирание значительного количества рыбы заметным образом не влияет на его увеличение.

Камчатское отделение
Всесоюзного Тихоокеанского
научно-исследовательского института
рыбного хозяйства и океанографии

Получено 17. V. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кизеветтер И. В. Технохимическая характеристика дальневосточных промысловых рыб. Изв. Тихоокеанского научно-исследовательского ин-та рыбного хозяйства и океанографии, 21, 1942.
2. Кузнецов С. И. Результаты бактериологических исследований воды Глубокого озера. Тр. Гидробиол. ст. на Глубоком оз., VI, вып. 2 и 3, 1925.
3. Кузнецов С. И. Сравнительное изучение азотного, фосфорного и кислородного режима Глубокого и Белого озера. Тр. Лимнол. ст. в Косине, 17, 1934.
4. Кузнецов С. И. Успехи советской озерной микробиологии за 20 лет. Микробиология, VI, вып. 8, 1937.
5. Салимовская-Родина А. Г. Микробиологические исследования Онежского озера в 1930 и 1931 гг. Исследование озер СССР. 1937.
6. Juday ch., Rich W., Kammerer G. and Mann A. Limnological studies of Karluk Lake, Alasca, 1926—1930. Bull. Bur. Fish., 1947, 1932.

АКТИВНОСТЬ ДРОЖЖЕЙ, АДАПТИРОВАННЫХ К АНТИСЕПТИКАМ

А. А. Имшенецкий и *К. З. Перова*

Приучение микроорганизмов к различным химическим веществам происходит с неодинаковой скоростью. Адаптация к антисептикам совершается с исключительной быстротой; известны случаи, когда через 14 пересевов устойчивость бактерий к стрептомицину удавалось повысить в 22 000 раз. С другой стороны, в исследованиях с некоторыми ядами и антисептиками такое приучение происходит очень медленно. Независимо от скорости адаптации, все эти исследования интересны тем, что они представляют собой частный и притом наиболее изученный случай направленной изменчивости микроорганизмов. Новые свойства, приобретаемые клетками в процессе их развития, закрепляются по наследству, и экспериментатор получает новую расу микроба. Такое изменение не может касаться только одного свойства микроба. Происходящие в процессе адаптации приспособления к новым условиям существования, закономерно сопровождается изменением всего типа развития микроорганизма. Изменяются различные процессы метаболизма клетки, ее рост и размножение, чувствительность к внешним факторам и т. д. Именно поэтому изучению физиологии вновь получаемых экспериментально культур должно уделяться большое внимание.

В течение года нами велись исследования по изучению дрожжей Saccharomyces cerevisiae, адаптированных к сулеме и карболовой кислоте. Приспособление дрожжей к этим антисептикам происходит очень медленно, а при недостаточно осторожном увеличении концентрации антисептиков в среде культуры дрожжей вырождаются и погибают. В процессе адаптации не только повышается чувствительность дрожжей к антисептикам, но изменяется их морфология и физиология. Результаты этих исследований будут опубликованы нами в дальнейшем. Данная статья посвящена выяснению причин одного интересного явления, наблюдавшегося в процессе приучения дрожжей к антисептикам. В процессе работы неоднократно отмечалось, что при посеве дрожжей, адаптированных к антисептикам, на пивное сусло, не содержащее антисептиков, они более интенсивно сбраживали сусло, чем некоторые, не приучавшиеся к ядам, дрожжи. Это явление носило закономерный характер. Представление о такой стимуляции брожения дают кривые, приведенные на рис. 1. Эти опыты по брожению были проведены при соблюдении следующей методики. В плоскодонные колбы ёмкостью в 200 мл наливалось 50 мл пивного сусла 7 Балг. Колбы заражались дрожжами, приученными к сулеме. В качестве посевного материала в колбу вносилось 0,5 мл 24-часовой культуры дрожжей, выросшей на сусле, содержащей сулему в концентрации 1 : 20 000. Колбы были закрыты затворами, и вывод об интенсивности брожения делался на основании взвешивания колб ежедневно в течение четырех дней. Кривые брожения были вычерчены на основании четырех цифр для каждого срока опытов.

Получая постоянно ускорение брожения, мы вначале предположили, что оно связано с действием сулемы на дрожжи, так как вместе с посевным материалом вносилось сусло, содержащее антисептик. В следующих опытах в качестве посевного материала были взяты адаптированные дрожжи, но промытые водой перед посевом с целью отмыть их от среды,

содержащей антисептик. Посевным материалом служила суточная культура дрожжей, выросшая на сусле с сулемой (1 : 20 000) или на сусле с карболовой кислотой (1 : 800). Дрожжи со дна колб переносились в центрифужные пробирки и трижды промывались водопроводной водой и центрифугировались. В дальнейшем взвесь дрожжей в воде в количестве 5 мл, содержащих 5 млн. клеток, вносилась в колбу с 45 мл пивного сусла. Исходная неадаптированная культура также подвергалась промыванию. Результаты этих опытов изображены на кривых (рис. 2). Мы видим, что посев промытыми дрожжами также дает отчетливую стимуляцию брожения и в том случае, когда вместе с дрожжами не вносится культуральная жидкость, содержащая антисептик. Возникло предположение, что в результате длительного приучения дрожжей к антисептикам

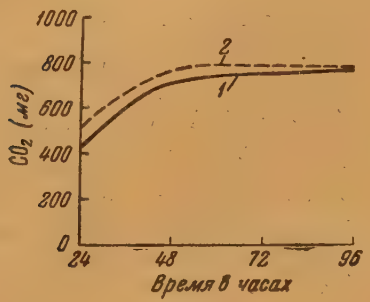


Рис. 1. Ускоренное сбраживание сусла, не содержащего сулемы, дрожжами, адаптированными к сулеме

1 — исходная; *2* — адаптированная к сулеме

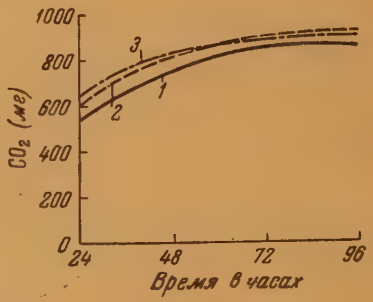


Рис. 2. Стимуляция спиртового брожения при употреблении в качестве посевного материала культур дрожжей, адаптированных к сулеме или фенолу и трижды промытых и отцентрифугированных перед посевом

1 — исходная; *2* — адаптированная к сулеме; *3* — адаптированная к фенолу

у них изменяется физиология таким образом, что после переноса их в обычную, лишенную антисептика, среду их активность возрастает, и это повышение активности носит наследственный характер. Аналогичное явление постоянно наблюдала в нашей лаборатории Логинова. При перенесении дрожжей, адаптированных к 40°, в среду, имеющую температуру 30°, дрожжи размножались быстрее, чем неприученные (исходные) дрожжи при 30°. Однако по отношению к дрожжам, адаптированным к антисептикам, такое объяснение не могло считаться убедительным. Совершенно очевидно, что, несмотря на промывание дрожжевых клеток, они могут содержать антисептик, который в дальнейшем поступает в питательную среду и активирует брожение. С целью проверить это предположение был проведен посев культуры дрожжей, адаптированной к антисептикам, но посевной материал был внесен в минимальном количестве — одна петля жидкой культуры. Кривые, изображенные на рис. 3, убеждают в том, что в этих условиях опыта стимуляция брожения исчезает. Дрожжи, приученные к карболовой кислоте и сулеме, сбраживают пивное сусло без антисептика, так же, как и исходная культура дрожжей. Эти данные были дополнены следующими опытами. Культуры дрожжей, адаптированные к антисептикам, три раза пассировались на пивном сусле, не содержащем антисептика, а затем были поставлены опыты с внесением большого количества посевного материала — 5 млн. клеток на 45 мл сусла. Результаты этих опытов приведены на рис. 4. Брожение, вызываемое адаптированными дрожжами, в этих условиях опыта протекает не интенсивнее, а несколько слабее, чем в контроле. Это отчетливее выражено в опытах с дрожжами, приученными к сулеме. Таким образом,

культуры дрожжей, приученные к антисептикам, не изменяют своей наследственности. Их активность после пересевов на средах без антисептика не возрастает, а остается такой же или даже несколько ниже, чем активность исходной культуры. Стимуляция же брожения, наблюдаемая при посеве промытыми дрожжами, зависит от внесения вместе с клетками антисептика в среду. Ускорение спиртового брожения под влиянием

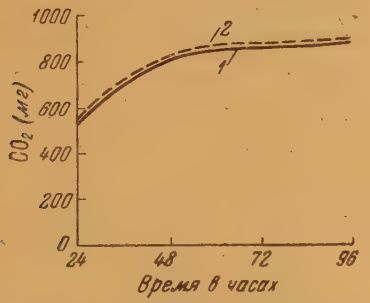


Рис. 3. Отсутствие стимуляции брожения при внесении посевного материала в очень небольшом количестве (одна петля жидкой культуры)

1 — исходная; 2—адаптированная к сулеме

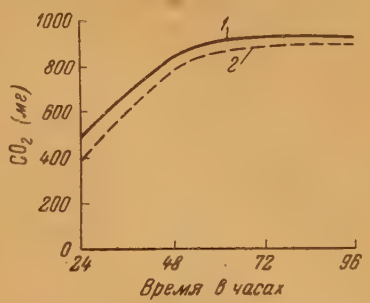


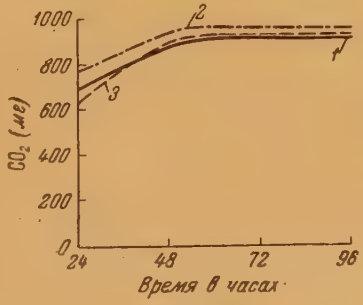
Рис. 4. Несколько замедленное сбраживание пивного сусла при внесении дрожжей, адаптированных к сулеме, по предварительно три раза пересеянных на сусле без сулемы

1 — исходная; 2—адаптированная к сулеме

различных ядов известно давно и служило предметом специальных исследований. Обращает внимание возможность отчетливой стимуляции за счет ничтожных следов антисептиков, содержащихся в клетках, вносимых в среду вместе с посевным материалом. С целью окончательно убедиться в том, что наблюдаемое стимулирующее действие связано с

Рис. 5. Стимуляция спиртового брожения малыми и угнетение более высокими концентрациями сулемы, добавленной к пивному суслу. В качестве посевного материала применены исходные (не адаптированные к антисептику) дрожжи

1 — контроль; *2* — 0,00005 мг сулемы в 1 мл; *3* — 0,000125 мг сулемы в 1 мл



внесением минимальных количеств антисептика, были поставлены опыты по брожению в присутствии сулемы. К 50 мл пивного сусла добавлялось 0,1 мл, 0,5 мл и 2,5 мл раствора сулемы в разведении 1 : 20 000. Кривые выделения углекислоты, изображенные на рис. 5, говорят о том, что малые концентрации (0,5 мл) отчетливо и постоянно ускоряют сбраживание углеводов сусла, тогда как более высокие концентрации сулемы (2,5 мл) по сравнению с контролем угнетают брожение.

Таким образом, ускорение сбраживания, закономерно происходящее при внесении даже промытого посевного материала, взятого из культур дрожжей, приученных к ядам, не может быть объяснено ни последействием ядовитых веществ, ни изменением физиологии дрожжей. Ничтожное количество ядовитых веществ, вносимых с посевным материалом, уже достаточно для стимуляции брожения. Прямые опыты показали, что добавление 0,000025 г сулемы к 50 мл среды уже достаточно для стимуляции спиртового брожения.

Выводы

1. Дрожжи Saccharomyces cerevisiae, адаптированные к сулеме или карболовой кислоте, при посеве их в пивное сусло, лишенное антисептиков, сбраживают его энергичнее, чем исходная (неадаптированная) культура.

2. Стимуляция брожения наблюдалась при внесении дрожжей, отмытых от антисептика, в количестве 5 млн. клеток на 45 мл среды.

3. При внесении адаптированных дрожжей в сусло в небольшом количестве (одна петля жидкой культуры) ускорения брожения не наблюдалось.

4. Добавление крайне незначительных количеств сулемы в пивное сусло приводит к интенсификации брожения и в том случае, когда оно вызывается неадаптированной исходной культурой.

5. Ускорение брожения, происходящее при сбраживании сусла, не содержащего антисептиков, дрожжами, адаптированными к антисептикам, не связано с изменением физиологии дрожжей в результате их приучения к ядовитым веществам. Такая стимуляция целиком зависит от внесения ничтожных количеств антисептика в среду с посевным материалом, т. е. с клетками дрожжей, сохраняющими в себе антисептик даже после трехкратного их промывания и центрифугирования.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 25. VII. 1953 г.

УСКОРЕНИЕ СПИРТОВОГО БРОЖЕНИЯ ПРОДУКТАМИ РАЗЛОЖЕНИЯ БЕЛКОВ

А. Г. Забродский и *Н. С. Кордюкова*

Интенсивность спиртового брожения имеет для практики большое значение. Вместе с тем, несмотря на сравнительную изученность и давность вопроса, все же многие факторы, могущие влиять на энергию брожения, выяснены еще далеко не полностью. Подтверждением сказанного может служить вскрытый нами факт значительно более интенсивного сбраживания заторов, приготовленных из дефектного зерна кукурузы, по сравнению с заторами из доброкачественной кукурузы.

Помимо практического значения, затронутый вопрос представляет и теоретический интерес, так как уже давно установлено угнетение спиртового брожения в случае применения зерна и муки, испорченных в результате длительного и неправильного хранения. Наблюдаемое при этом угнетение брожения объясняется влиянием продуктов разложения белков, а в некоторых случаях влиянием продуктов расщепления жиров [1, 2].

Изучение причин более интенсивного сбраживания затора (сусла) из дефектного зерна по сравнению с нормальным и явилось целью настоящей работы.

Объектом для исследований служила нормальная и дефектная кукуруза II, III и IV степени порчи, подвергавшаяся самосогреванию при температуре 25—40° в течение 15—18 суток. Измельченную в муку кукурузу смешивали с тройным количеством воды и после клейстеризации при 100° разваривали в течение 75 минут в автоклаве под давлением от 1 до 5 атм. в зависимости от целей опыта. Заторы из нормального и дефектного зерна имели одинаковую концентрацию сухих веществ, но по количеству введенного в них крахмала и по содержанию сбраживаемых углеводов они не были тождественны.

Сбраживание заторов дрожжами XII расы продолжалось трое суток при температуре 28—30°. Об интенсивности брожения судили по количеству углекислого газа, выделившегося от сбраживания 500 г нефильтрованного затора.

При первых же опытах выявилось, что в начальной стадии и в период главного брожения расщепление сахара и выделение углекислого газа были более интенсивными для дефектной кукурузы. Поэтому основная масса сахара в заторе из дефектной кукурузы сбраживалась за 16—24 часа и за этот срок заканчивалось главное брожение. Заторы из нормальной кукурузы в этот период находились еще в стадии разбраживания (рис. 1, 2). Свойство быстрого сбраживания сахара в первой фазе этого процесса присуще зерну III и IV степени порчи и в меньшей мере зерну II степени.

Что же касается второй фазы брожения, именуемой дображиванием, то здесь не наблюдалось существенных отклонений между нормальной и дефектной кукурузой. Чем круче подымалась кривая газовыделения в первой фазе, тем скорее она достигала максимума во второй фазе. Из графика на рис. 2 видно, что затор из кукурузы III степени дефектности практически полностью выбраживал за 48—55 часов, тогда как затор из нормальной кукурузы достигал того же уровня за 72 часа.

Неоднократно повторенные опыты полностью воспроизводили ту же зависимость: скорость сбраживания дефектного зерна была явно большей (табл. 1).

Объяснение этому, по всей вероятности, надо искать в биохимических особенностях доброкачественного и дефектного кукурузного зерна. И действительно, обращаясь к табл. 2, видим, что в самосогревавшемся зерне гораздо больше сбраживаемых сахаров и воднорастворимых форм азота. По сравнению с нормальным зерном в нем также заметно больше азота, не осаждаемого трихлоруксусной кислотой и аминного азота.

Таким образом, в дефектном зерне нужные дрожжевым клеткам вещества находятся в готовом виде. Поэтому размножение дрожжей и расщепление ими сахара не зависят от протеолитических процессов, происходящих в среде одновременно со спиртовым брожением. Что это так, видно из того как замедленно сбраживают заторы из нормальной кукурузы, если ферментативной протеолиз не обеспечивает нужного для развития дрожжей количества аминокислот.

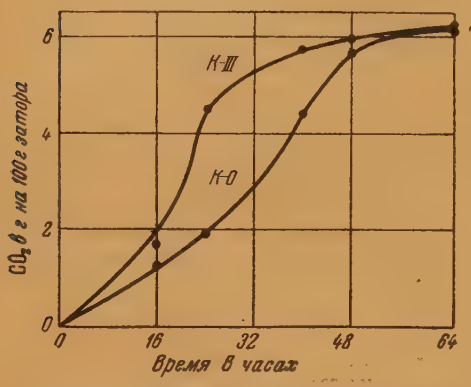


Рис. 1. Динамика газовыделения при брожении

К-о — нормальная кукуруза, разваренная при 1 атм.; К-III — дефектная кукуруза III степени, разваренная при 1 атм.

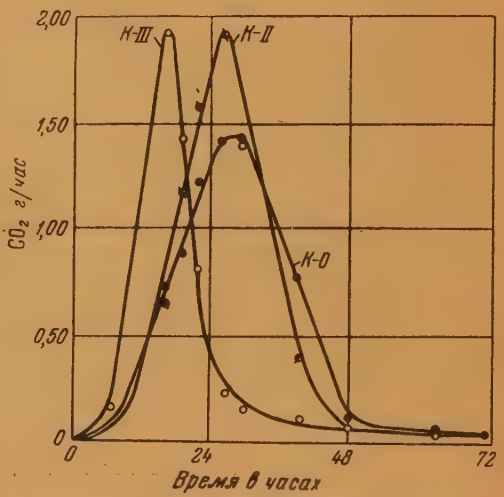


Рис. 2. Кривые брожения

К-о — нормальная кукуруза, разваренная при 3 атм.; К-II и К-III — дефектная кукуруза II и III степени разваренная при 3 атм.

В связи с приведенными данными возник вопрос о том, нельзя ли достичь необходимого распада белковых веществ гидролитическим путем, применяя для этого более высокую температуру при разваривании нормальной кукурузы с тем, чтобы повысить степень ее сбраживания. Имелось в виду приблизить биохимические свойства нормального зерна к дефектному, используя для этого температурный фактор вместо ферментов.

С этой целью были поставлены опыты по выяснению зависимости между температурой разваривания зерна и скоростью его сбраживания. Нормальную кукурузу в измельченном виде подвергали единовременному развариванию в течение 90 минут при 1 и 4 атм. и после осахаривания сбраживали в одинаковых условиях. Кривые рис. 3 указывают на медленное сбраживание в том случае, когда разваривание зерна происходило при низком давлении.

Аналогичными опытами было установлено, что заторы из кукурузы II степени дефектности, по своим биохимическим свойствам близкой к нормальной, сбраживались также тем медленнее, чем больше снижалось давление при разваривании (рис. 2, 4 и 5).

Если температуру при разваривании и соответственно давление повысить до 5 атм., то скорость сбраживания доброкачественного зерна

Таблица 1

Интенсивность сбраживания заторов из доброкачественной и дефектной кукурузы

№ опытов	Исследуемое зерно	Давление при развари-вании в атм.	Выделилось CO_2 в г на 500 г затора за время брожения в часах				
			16	20	24	40	72
1	Доброкачественное . .	3	9,54	13,54	18,14	32,10	34,19
	Дефектное III степени .	2	17,60	21,20	25,00	28,95	31,00
2	Доброкачественное . .	4	12,40	24,02	28,40	32,22	33,72
	Дефектное III степени .	2	16,00	23,30	24,22	25,90	27,40
3	Доброкачественное . .	1	5,07		11,87	27,87	33,82
	Дефектное IV степени .	1	14,07		19,67	25,17	30,57
4	Доброкачественное . .	3	12,85		20,05	31,75	34,90
	Дефектное IV степени .	3	20,25		27,65	30,05	31,85

Таблица 2

Биохимический состав кукурузы нормальной и дефектной в процентах на сухое вещество

Вещество	Зерно		Изменения IV степени %
	нормальное	дефектное IV степени	
Сухие	89,09	89,12	—
Воднорастворимые	10,10	14,36	142,2
Непосредственно редуцирующие	0,24	0,38	158,1
Сахароза	0,79	0,05	6,2
Другие сахариды	0,0	4,15	—
Крахмал	68,22	57,27	83,9
Азот			
Общий	1,853	2,636	142,2
Воднорастворимый	0,179	0,697	389,4
Осаждаемый уксуснокислым свинцом	1,728	1,947	112,7
Осаждаемый Cu $(OH)_2$	1,793	2,167	120,9
Не осаждаемый трихлоруксусной кислотой	0,212	0,565	266,5
Аминный	0,189	0,486	257,1

достигает скорости сбраживания дефектного зерна (табл. 3, опыт 1). Тот же результат получается и в том случае, когда муку доброкачественного зерна в смеси с трехкратным количеством воды выдержать перед разваривaнием при температуре 45—60°, благоприятной для автолитического расщепления белков.

Если же температуру мучной суспензии поднять до 80° и тем самым инактивировать ферменты, то ускорения брожения от подобного теплового воздействия на муку не происходит (табл. 3, опыт 2). Очевидно, при автолизе происходит накопление продуктов ферментативного распада белков, служащих питанием для дрожжей.

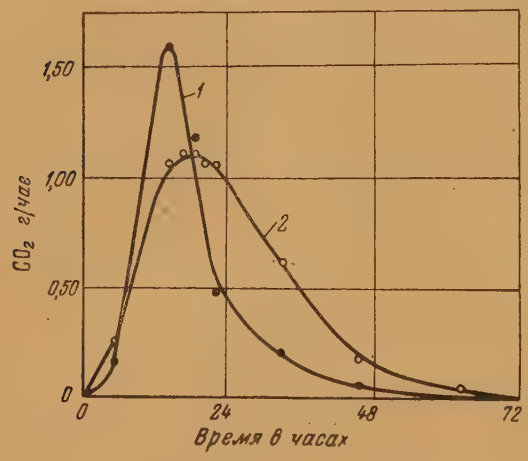


Рис. 3. Кривые брожения

1 — нормальная кукуруза, разваренная при 2 атм.; 2 — нормальная кукуруза, разваренная при 4 атм.

Исходя из предыдущих опытов, естественно было ожидать ускорения брожения доброкачественной кукурузы от прибавления к ней дефектного зерна. Вполне отчетливые результаты получены при добавлении к доброкачественной муке 25% муки дефектного зерна, а также при добавлении водной вытяжки из этого количества муки. В этих условиях доброкачественная и дефектная мука сбраживались с одинаковой скоростью (табл. 3, опыты 3 и 4).

Приведенные опыты указывают на сходство процессов, которые происходят при высокой температуре во время разваривания под давлением и при порче зерна в условиях неправильного его хранения. Чем больше разложилось самосогревавшееся зерно под влиянием ферментов и микроорганизмов, тем ниже требуется температура для гидролитического расщепления сложных веществ зерна на простые, растворимые в воде и пригодные для усвоения дрожжами.

Тот же процесс расщепления сложных углеводов и белков на простые соединения, необходимые дрожжам, происходит при водно-тепловой обработке зерна под давлением 3—5 атм. (табл. 4).

Методика опытов по гидролитическому расщеплению веществ зерна была следующей.

Размолотое в муку зерно кукурузы в количестве 60 г быстро смешивали с 180 мл воды и подвергали клейстеризации на кипящей водяной бане в течение 30 минут. После взвешивания, с целью уточнения количества воды, оклейстеризованную массу в герметически закрытом сосуде помещали в автоклав для разваривания под давлением до 5 атм. Нагревание в автоклаве продолжалось 120 минут, в том числе 30 минут на повышение температуры до максимальной и на снижение давления до атмосферного.

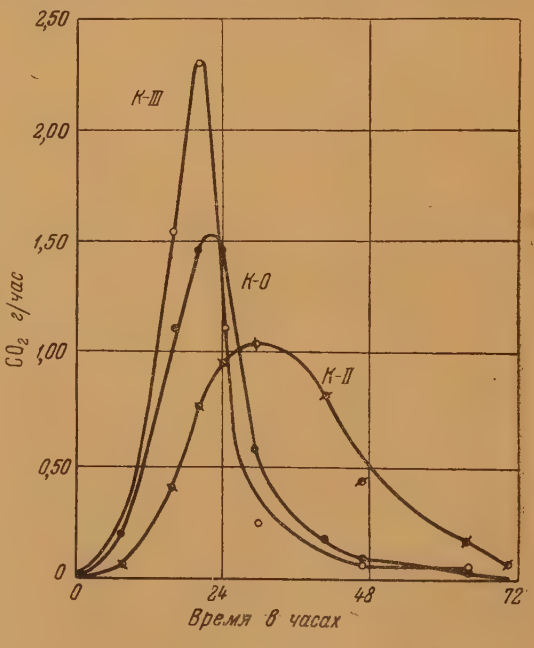


Рис. 4. Кривые брожения

К-о — нормальная кукуруза, разваренная при 4 атм.; К-II и К-III — дефектная кукуруза II и III степени, разваренная при 1 атм.

Таблица 3

Интенсивность сбраживания заторов из доброкачественной и дефектной кукурузы

№ опыта	Исследуемое зерно	Давление при разваривании в атм.	Выделилось CO_2 в г на 500 г затора за время брожения в часах				
			16	20	24	40	72
1	Доброкачественное . .	5	13,50	18,95	25,30	31,40	33,05
	Дефектное	2	13,40	19,65	23,70	28,60	30,70
2	Доброкачественное, неавтолизированное . .	4	6,70	10,68	15,90	27,40	29,90
	Доброкачественное, автолизированное 16 часов при 45° . . .	4	10,50	16,88	21,50	29,40	29,70
	То же при 80°	4	7,30	11,93	17,16	28,36	30,05
3	Доброкачественное . .	3	11,98	16,48	21,45	33,28	35,78
	Доброкачественное + +25% зерна дефектного	3	20,98	25,30	28,60	32,73	34,73
	Дефектное	3	18,40	23,74	25,10	28,91	30,13
4	Доброкачественное . .	4	11,40	18,70	24,20	30,10	33,05
	Доброкачественное + +25% вытяжки дефектного зерна . . .	4	16,90	23,11	27,71	32,36	34,76

Таблица 4

Изменение биохимических свойств зерна кукурузы при водно-тепловой обработке

Вещества	До нагревания	После нагревания при давлении $\frac{\text{атмосфера}}{\text{градусы}}$			
		$\frac{0}{100°}$	$\frac{1}{120°}$	$\frac{}{142,3°}$	$\frac{5}{158,1°}$
Воднорастворимые	10,1	13,8	15,4	25,1	40,3
Непосредственно редуцирующие . .	0,24	1,43	1,65	1,80	3,55
Сахароза	0,79	0,52	0,27	—	0,26
Другие сахариды	0,0	0,47	0,48	0,66	2,70
Декстрины	2,29	14,55	14,46	22,50	51,36
Азот					
Общий	1,85	1,88	1,88	1,85	1,90
Воднорастворимый	0,18	0,20	0,24	0,49	0,65
Осаждаемый уксуснокислым свинцом	1,73	1,73	1,70	1,59	1,39
Не осаждаемый трихлоруксусной кислотой	0,21	0,22	0,27	0,39	0,56
Аминный	0,19	0,19	0,22	0,28	0,40

Полученную разваренную массу высушивали в тонком слое на стекле при сильной тяге воздуха и температуре не свыше 30—40°, а затем размалывали и анализировали.

Под действием нагревания и воды в углеводном и белковом составе зерна произошли большие изменения: воднорастворимые вещества увеличились с 10,1 до 40,3%, редуцирующие сахара с 0,24 до 3,55%, воднорастворимый азот с 0,18 до 0,65%, не осаждаемый трихлоруксусной кислотой азот с 0,21 до 0,56%, аминный азот с 0,19 до 0,40% и т. д. Значительная доля крахмала гидролизовалась до декстринов.

Из сравнения табл. 2 и 4 видно, что нормальное зерно кукурузы после разваривания под давлением 5 атм. по своему биохимическому составу близко к дефектному зерну, не подвергшемуся действию высоких температур.

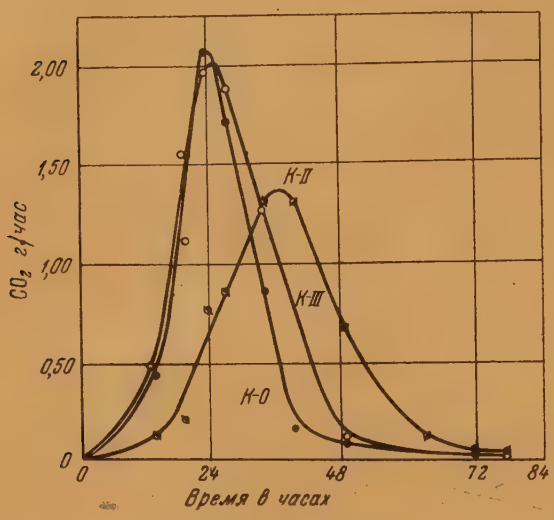


Рис. 5. Кривые брожения

Ко — нормальная кукуруза, разваренная при 4 атм.; и КII КIII — дефектная кукуруза II и III степени разваренная при 2 атм.

О сходстве процессов, происходящих при самосогревании и плесневении зерна и температурной обработке его, более подробно сказано в работе Забродского и Положишник [3], в которой показано, что в благоприятных для автолиза условиях, т. е. при 45—60°, и при разваривании зерна под высоким давлением доброкачественное зерно приобретает все признаки дефектного как по цветности, растворимости продуктов распада углеводов и белков, так и по сбраживаемости дрожжами.

Для развития дрожжевых клеток, помимо сахара, наибольшее значение имеют аминокислоты. Но, как показали исследования Коновалова [4, 5], дрожжи избирательно потребляют различные аминокислоты: размножению дрожжевых клеток и энергичному брожению наиболее благоприятствуют аспарагин, тирозин и мочевина, тогда как гликокол и другие аминокислоты усваиваются дрожжами хуже.

Так как нормальное кукурузное зерно, физиологически полностью созревшее и правильно хранившееся, содержит аминного азота немного, то, учтя данные предыдущих опытов, естественно было предположить, что медленное сбраживание заторов из доброкачественной кукурузы вызывается недостатком необходимых дрожжам аминокислот.

В подтверждение этой мысли были проведены опыты сбраживания затора с добавлением к нему аминокислот. Несмотря на то, что доброкачественное зерно разваривалось при сравнительно низком давлении (3 атм.), скорость брожения в присутствии аспарагина намного возросла и достигла скорости сбраживания дефектной кукурузы (рис. 6). От прибавки же аспарагина к затору из дефектной кукурузы и к затору нормальной кукурузы, разваренной при 5 атм., скорость брожения почти не изменилась. Добавление тирозина, гликокола и сернокислого аммония не ускорило брожения (табл. 5).

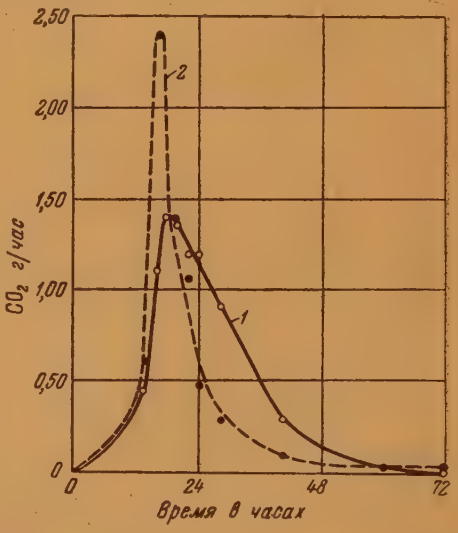


Рис. 6. Кривые брожения для нормальной кукурузы

1 — без аспарагина; 2 — с аспарагином

Итак, ускоренное сбраживание дефектного зерна объясняется наличием в нем достаточного количества необходимых для дрожжей амино-

Таблица 5

Данные об интенсивности брожения в присутствии аминокислот

№ опыта	Затор	Давление при разваривании в атм.	Выделилось CO_2 в г на 400 г затора за время брожения в час.				
			16	20	24	40	72
1	Из доброкачественного зерна . . .	3	8,25	13,45	18,25	25,30	26,30
	То же + 0,4 г аспарагина	3	13,42	18,52	21,27	25,57	26,72
	То же + 0,4 г тирозина	3	9,75	15,35	19,55	24,65	25,75
	Из дефектного зерна	3	14,00	17,95	19,65	22,65	23,15
	То же + 0,4 г аспарагина	3	13,92	17,80	19,51	22,59	23,08
2	Из доброкачественного зерна . . .	4	11,10	17,95	25,90	32,00	32,75
	То же + 0,4 г гликокола	4	10,70	17,65	25,05	32,15	32,90
3	Из доброкачественного зерна . . .	4	9,25	12,25	17,65	27,48	32,75
	То же + 0,3 г сернокислого аммония и 0,6 г суперфосфата	4	8,45	11,65	17,65	28,00	32,70

кислот, образовавшихся вследствие ферментативного протеолиза белков во время самосогревания и плесневения зерна. Чтобы достигнуть той же скорости сбраживания доброкачественного зерна, необходимо его подвергнуть развариванию с водой под давлением не менее 4,5—5,0 атм.

Выводы

1. Установлено, что более интенсивное сбраживание дефектного зерна по сравнению с нормальным зависит от аминокислотного состава сбраживаемой среды.
2. Отмечено сходство процессов, происходящих при разваривании зерна под давлением и при самосогревании его в естественных условиях.
3. Применение в спиртовом производстве разваривания кукурузного зерна при высокой температуре необходимо не только для растворения крахмала, но и для гидролитического расщепления белков, продукты которого ускоряют брожение.

Киевский филиал
Всесоюзного научно-исследовательского
института спиртовой промышленности

Получено 16. XII. 1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кретович В. Л. и Бундель А. А. Исследование масла из перезимовавшего в поле токсического проса. Биохимия, 10, вып. 3, 1945.
2. Кретович В. Л., Мишустин Е. Н. и Бундель А. А. Ускорение спиртового брожения продуктами разложения жиров. Биохимия, 11, вып. 2, 1946.
3. Забродский А. Г. и Положишник А. Ф. Меланоидинообразование в процессе тепловой обработки зерна. Биохимия, 17, вып. 6, 1952.
4. Коновалов С. А. Питательная ценность различных азотистых соединений для дрожжей. Микробиология, XVIII, вып. 3, 1949.
5. Коновалов С. А. Избирательная способность дрожжей к потреблению азота различных аминокислот. Микробиология, XVIII, вып. 4, 1949.

О ВЫХОДЕ СПИРТА ПРИ ДРОЖЖЕВОМ БРОЖЕНИИ

III. ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ БРОЖЕНИЯ НА БАЛАНС ПРОДУКТОВ

В. А. Утенкова-Ранцан

Наши предыдущие исследования показали, что при воспроизведении в лаборатории производственных условий брожения гидролизных заводов, т. е. быстрого сбраживания низких концентраций сахара большим количеством дрожжей, неизменно получаются выходы спирта, не превышающие 82—88% от теории [2, 3]. В бродильной батарее заводов выходы держатся на том же уровне. Промышленность, разумеется, не может примириться с потерями 12—18% сбраживаемого сахара. Мы поставили перед собой задачу подыскать такие условия брожения живых дрожжей, которые нарушили бы координированную работу сложившейся в клетке ферментативной системы, вызвали бы торможение нежелательных побочных реакций и направили бы брожение в сторону максимального спиртообразования. Естественно, что в этом случае мы обратились к примеру промышленности, перерабатывающей на спирт пищевое сырье и получающей выходы спирта до 93—95% от теоретически возможного в условиях длительного сбраживания высоких концентраций сахара малым количеством дрожжей, т. е. резко отличных от условий гидролизного производства. Мы сочли необходимым проверить влияние упомянутых условий брожения, не полагаясь на тот установившийся взгляд, что причина низких выходов спирта при сбраживании гидролизатов должна заключаться только в их «вредности» для брожения и в отсутствии в них «ростовых веществ».

Подбор условий брожения

Для того чтобы выделить значение концентрации сахара, количества задаточных дрожжей и длительности брожения, проводилось сбраживание глюкозы в синтетической среде с питательными солями и автолизатом в качестве буфера, в различных условиях (табл. 1 и 2).

Таблица 1

Влияние концентрации глюкозы и количества задаточных дрожжей на выход спирта

Культура дрожжей	Условия брожения			Истрачен. глюкозы в %	Спирт	
	глюкоза в %	дрожжи в г/л	срок брожения в час.		в об. %	выход в % от теоретич.
Заводская . .	2	20	8	1,97	1,04	81,9
	10	2	51	9,41	5,58	92,0
Чистая культура раса XII	2	20	8	1,97	1,08	85,0
	10	2	51	8,52	5,12	93,3

При длительном брожении, где отношение веса задаточных дрожжей к сахару уменьшено в 10 раз, выходы спирта повышаются до 91—94% от теоретически возможных; при этом срок брожения увеличивается толь-

Таблица 2

Влияние концентрации глюкозы и количества задаточных дрожжей на выход спирта

Культура дрожжей	Условия брожения				Истрачен. глюкоза в %	Спирт	
	глюкоза в %	задаточные дрожжи		срок брожения в час.		в об. %	выход в % от теоретич.
		в г/л	в % от сахара				
Заводская	2	20	100	9	2,02	1,10	84,6
		2	10	44	2,02	1,11	85,4
	10	20	20	45	9,86	5,78	90,9
		2	2	70	9,84	5,96	94,0
Чистая культура раса Томская № 7	2	20	100	9	1,98	1,07	83,8
		2	10	46	1,98	1,12	88,5
	10	20	20	46	9,60	5,35	86,5
		2	2	72	9,61	5,61	91,4

ко в 5—6 раз, за счет обильного прироста дрожжей в этих условиях. Кроме того, здесь же намечается различная реакция производственной и чистой культур на изменение условий брожения: ферментативная система у расы Томская № 7 более отзывчива на изменение условий сбраживания, чем у дрожжей, взятых с гидролизного завода, которые при уменьшении их количества в 10 раз почти не увеличили выхода спирта из 2% глюкозы.

Приведенные опыты показали возможность повышения выхода спирта только изменением концентраций сахара и дрожжей при сбраживании синтетической среды с глюкозой.

В табл. 3 представлены результаты сбраживания ячменного сусла, содержащего 4,48% сахара (после инверсии), расой Томская № 7.

Таблица 3

Сбраживание ячменного сусла при различных количествах дрожжей (раса Томская № 7)

Количество дрожжей в г/л	Срок брожения в час.	Сахар в % (после инверсии)		Спирт	
		остаточный	истраченный	%	выход в % от теоретич.
3,3	41	2,20	2,28	1,44	98,1
		2,19	2,29	1,44	97,6
20	18	1,77	2,71	1,38	79,0
		1,79	2,69	1,38	79,6

Даже в ячменном сусле, считающемся наиболее благоприятной средой для брожения и развития дрожжей, путем увеличения количества задаточных дрожжей получено снижение выхода спирта с 98 до 79% от теоретически возможных, т. е. почти на 20%. Этот опыт показывает, что

даже наилучшее брожение чистой культуры дрожжей может быть «испорчено» путем сокращения срока брожения.

В тех опытах, где рассматривалось влияние изменения концентраций дрожжей на выход спирта, мы отметили отсутствие пропорциональности между количеством задаточных дрожжей и сроком брожения, т. е. относительное ускорение процесса по мере снижения концентрации дрожжей. Казалось бы, усиленный прирост дрожжей должен был потребовать лишний расход сахара и вызвать снижение выхода спирта; в действительности же мы наблюдаем обратное явление. В опыте, представленном в табл. 4, даны величины прироста дрожжей при их различной исходной концентрации.

Таблица 4

Влияние исходной концентрации заводских дрожжей на их прирост при сбраживании 2,50%-ной глюкозы

К-во дрожжей в г/л	Срок брожения в час.	Концентрация спирта в об. %	Дрожжи, сырой вес			
			начальный	конечный	прирост	прирост в г на 1 г заданных дрожжей
			в г в опыте			
50	$2^1/_2$	1,34	7,5	8,13	0,63	0,C8
20	$5^1/_2$	1,36	3,0	4,02	1,02	0,34
10	8	1,36	1,5	2,55	1,05	0,70
7,5	10	1,37	1,13	2,02	0,89	0,79
5	$10^3/_4$	1,39	0,75	1,65	0,90	1,20
2,5	$12^3/_4$	1,39	0,37	1,38	1,01	2,73

Опыт объясняет кажущееся противоречие: хотя относительный прирост новых клеток резко возрастает при уменьшении исходного количества дрожжей, но абсолютная величина прироста при этом мало меняется, а так как количество сброженного сахара во всех вариантах одинаково, то, очевидно, и расход его на новообразование клеток не подвергается значительным изменениям.

Мы внесли в бродительную среду динитрофенол в качестве ингибитора, чтобы исключить процесс размножения при брожении (табл. 5).

Таблица 5

Влияние динитрофенола на брожение заводских дрожжей

Среда	ДНФ	Дрожжи в г/л	Срок брожения в час.	Спирт	
				в об. %	выход в % от теоретич.
Глюкоза 2,5%	—	25	6	1,37	85,0
	$5 \cdot 10^{-4}$ М	25	6	1,48	91,9
	—	1	21	1,41	87,5
	$5 \cdot 10^{-4}$ М	1	43	1,43	88,8
Гидролизат	—	25	18	1,24	85,2
	$5 \cdot 10^{-4}$ М	25	18	1,32	91,6

Результат действия динитрофенола зависит от исходного количества дрожжей: при 25 г дрожжей на 1 л среды получено резкое увеличение вы-

хода спирта с 85 до 92% от теоретического; при исходном количестве дрожжей 1 г на 1 л эффект, напротив, незначителен. На первый взгляд представляется наиболее вероятным объяснение этого явления образование добавочного спирта в присутствии динитрофенола из запасного гликогена дрожжей; действительно спирта больше там, где больше дрожжей. Но контрольный опыт показал, что при выдерживании отбродивших и отмытых дрожжей в течение 6 часов в воде при 30° количество образовавшегося спирта лежит в пределах погрешности анализа. На основании сказанного мы полагаем, что добавочный спирт вырабатывается ферментами убитых дрожжей из сахара среды. Но приращение спирта в присутствии ДНФ вызывается более сложными смещениями, чем простая экономия сахара за счет отсутствия размножения дрожжей. Большое количество дрожжей бродит чисто ферментативно и быстро; их ферменты не успевают измениться. При малом количестве задаточных дрожжей введение ДНФ и подавление размножения обуславливают значительное замедление брожения; ферменты истощаются, стареют и ведут процесс менее гармонично. Напротив, в этом случае заслуживает внимания способность столь малого количества ферментов к координированной работе в течение 40 часов.

При брожении живых дрожжей наибольший дефицит спирта наблюдается в условиях быстрого и бурного брожения. На этом основании возникло предположение о возможной утечке летучего ацетальдегида с сильным током отходящей углекислоты: выведение альдегида из сферы реакции имело бы следствием снижение накопления спирта и образование избыточного глицерина и углекислоты. Проверка этой возможности была необходима для дальнейших заключений. Опыт показал (табл. 6), что в бражке нет накопления ацетальдегида; также улавливание в поглотителе обнаружило ничтожное его количество: менее 0,01% от истраченного сахара.

Таблица 6

Учет летучих продуктов брожения в бражке и в газовой фазе

	В бражке			В газовой фазе	
	истрачен. глюкоза	спирт	укс. альдегид	спирт	укс. альдегид
Содержание в %	2,50	1,365*	0,00088	—	—
Всего в опыте в г	12,50	5,415	0,0044	0,016	0,00106
В весовых % от истраченной глюкозы	100	43,32	0,035	0,128	0,0085
Удалено с газами в % от всего к-ва	—	—	—	0,2	19,5

* Объемный процент.

Наконец, мы сочли необходимым удостовериться, не вызывается ли дефицит спирта стабилизацией сахара до конца брожения в виде эфиров фосфорной кислоты. Мы провели сбраживание 2,55% глюкозы с 20 г заводских дрожжей на литр. Выход спирта составлял 85,5% от теоретического. Бражку подвергали гидролизу при 100° с 1 *N* и 3 *N* соляной кисло-

Условия опыта	Сахар %	P в мг %
Без гидролиза	0,00	41,1
Гидролиз 3 часа с 1 *N* HCl	0,00	40,8
Гидролиз 3 часа с 3 *N* HCl	0,00	41,4

той. После гидролиза и нейтрализации в бражке определяли сахар и фосфор (по методу Фиске — Суббароу).

Полученные нами данные говорят об отсутствии даже трудногидролизуемых эфиров к концу брожения.

Становится очевидным, что дефицит спирта при брожении практически полностью обуславливается расходом сахара на побочные реакции.

Баланс продуктов брожения

При увеличении срока брожения путем повышения концентрации сахара и уменьшения количества задаточных дрожжей достигается повышение выхода спирта, которое следует рассматривать как торможение каких-то побочных реакций брожения, идущих в ущерб накоплению спирта. Цель нижеследующих опытов — найти те побочные продукты, на образование которых преимущественно расходуется сахар, и выяснить, какие побочные реакции могут быть заторможены путем изменения условий брожения, т. е. активность каких ферментных групп обладает наибольшей пластичностью.

Итоговый баланс брожения и соотношение накапливаемых при брожении побочных продуктов изучались рядом авторов. Однако исследования этого рода касаются вопросов виноделия и направлены на изучение малых количеств веществ, определяющих качество вин, но не на достижение максимального выхода спирта. Во многих работах спирт даже не учитывали.

Гваладзе [1] исследовал коррелятивные соотношения между количествами продуктов, образующихся по ходу сбраживания виноградного сока и сахарозы в высокой концентрации. Гильмэ (Gillemet [9]) балансировал спиртовое брожение по углероду, определяемому в CO_2, спирте, дрожжах и в бражке. Несмотря на идеальное схождение баланса, его данные вызывают сомнение, так как по расчету (не произведенному самим автором) в его опытах выход CO_2 от теоретического ниже, чем выход спирта, чего никогда не наблюдается. Опыты Женевуа и его сотрудников (Genevois [5—8]) показали, что в зависимости от состава среды (сахароза, виноградный сок) и от расы дрожжей сильно изменяются только соотношения отдельных вторичных продуктов брожения; образование спирта и CO_2, напротив, сохраняется почти без изменений.

Для учета растворенных и летучих продуктов брожения нами был сконструирован аппарат, изображенный на рисунке. Во время брожения через 2 л бродильной смеси в колбе, помещенной в термостат при 30°, пропускали слабый ток азота (лишенного O_2 и CO_2), который усиливали к концу брожения для полноты удаления выделившейся углекислоты из отбродившей жидкости. Вся поглотительная система, как связывающая O_2 и CO_2 в поступающем азоте, так и улавливающая летучие продукты брожения, находилась вне термостата. Бродильные газы поступали в охлажденный титрованный раствор бисульфита, где поглощался уксусный альдегид и большая часть спирта; непоглощенная часть спирта далее улавливалась в растворе хромовой смеси. Затем высушенная углекислота брожения нацело поглощалась в калиаппарате, содержавшем около 500 мл 60% КОН, установленном и тарированном на весах ($\pm$0,05 г). Перед концом брожения калиаппарт отключали, взвешивали и снова быстро включали систему в действие. Брожение считали оконченным по прекращении выделения CO_2 в течение одного-двух часов. Для учета дрожжей всю бражку быстро центрифугировали, дрожжи промывали на воронке Бюхнера и определяли их сырой и сухой вес. В бражке непосредственно и определяли спирт, уксусный альдегид и летучие кислоты; глицерин, янтарную и молочную кислоты определяли в остатке от отгона летучих кислот. Были приняты следующие методы определения отдельных веществ: сахара — по Бертрану; сбраживаемые гексозы в древесных гидролизатах по глюкозному методу, описанному нами ранее [2]; спирт — по температуре повисания стандартного шарика (флотационный метод ВНИИГС); уксусный альдегид (свободный или освобожденный содой из поглотителя) оттоняли в 0,01 *N* раствор бисульфита; избыток $NaHSO_3$ в отгоне снимали иодом, а альдегидбисульфитное производное разрушали сухим Na_2PO_4; освобожденный сульфит титровали иодом. Молочную и янтарную кислоты извлекали эфиром в экстракторе системы Танака и Эндо (Tanaka u. Endo [13]) в течение 30 часов; молочную кислоту определяли по ее окислению в ацетальдегид; янтарную — по методу фон-дер-Хейде (Von der Heide [10]) с исключением стадии окисления перман-

ганатом, убедившись на чистых препаратах в частичном разрушении янтарной кислоты в этих условиях, что также наблюдал Тасман (Tasman [14]). Гликоген в дрожжах определяли по методу Слоссе (Slosse [11]); отделение запасного гликогена от дрожжевой камеди вели по методу Стокхаузена и Зильберейзен (Stockhausen и Silbereisen [12]); углерод в дрожжах — сжиганием хромовым ангидридом по Кнопу. При учете продуктов брожения в древесных гидролизатах вносили поправки на их (кажущееся) наличие в среде, вызванное сложностью состава последней и недостаточной специфичностью реакций. При расчетах из общего количества CO_2 вычтено ее количество, соответствующее найденному спирту по уравнению Гей-Люссака; таким образом, найдена избыточная CO_2.

Аппарат (рисунок) для балансирования был дублирован и позволял вести два сравнительных брожения с одинаковыми дрожжами.

Опыт 1 — параллельное сбраживание 1) обычного нейтрализованного гидролизата и 2) того же гидролизата, но после предварительной обработки сероводородом, чтобы исключить влияние редуцирующих несахаров на ход бродильных реакций [3].

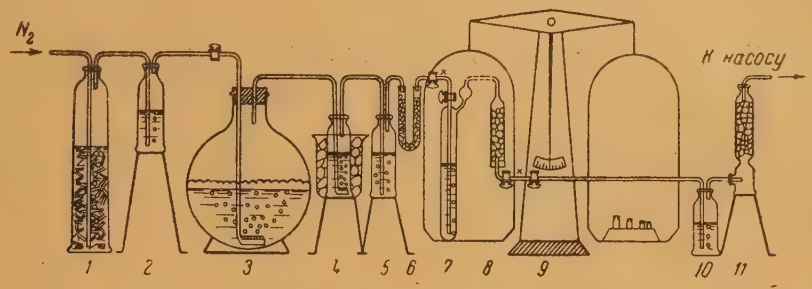


Рисунок. Аппарат для учета продуктов брожения.

1 — колонка с раствором пирогаллола в КОН, наполненная обрезками стеклянных трубок для поглощения примеси кислорода в азоте; *2* — поглотитель с 0,1 *N* $Ba(OH)_2$ и фенолфталеином для проверки на отсутствие CO_2; *3* — бродильная колба; *4* — 5% $NaHSO_3$ охлажденный льдом, для поглощения уксусного альдегида и спирта; *5* — *N* $K_2Cr_4O_7$ в 10% H_2SO_4 для поглощения спирта; *6* — U образная трубка с $CaCl_2$ для поглощения влаги; *7* — один из трех (два остальных не изображены на рисунке) поглотителей с 60% КОН для поглощения CO_2; *8* — трубка с натронной известью для поглощения влаги и CO_2. Поглотители *7* и *8* перед опытом тарированы и во время опыта подвешены на весах. *x* — места разъединений на момент взвешивания поглотителей; *9* — 0,1 *N* $Ba(OH)_2$ с фенолфталеином для проверки полноты поглощения CO_2 в *7* и *8*; *10* — колонка с натронной известью для предохранения *9* от CO_2 воздуха.

Таблица 7

Баланс продуктов при сбраживании гидролизата и глюкозы (2 л среды, 40 г заводских дрожжей. Данные в граммах на 100 г истраченного сахара)

Продукт брожжения	Опыт 1		Опыт 2	
	гидролизат 2,27% сбраживаемого сахара	гидролизат обработ. H_2S, 2,23% сбраживаемых РВ (по разности)	гидролизат 2,27% сбраживаемого сахара	глюкоза 2,25%
Спирт	45,23	45,61	44,88	44,71
CO_2 по спирту	43,21	43,59	42,86	42,71
CO_2 избыточ.	6,90	5,74	5,71	2,62
Уксусный альдегид	0,04	0,04	0,06	0,07
Уксусная кислота	0,00	0,00	0,00	1,82
Янтарная кислота	1,04	0,93	0,53	1,07
Молочная кислота	0,56	0,32	1,23	1,07
Глицерин	3,96	3,90	3,43	3,78
Прирост сухого веса дрожжей	0,00	0,00	0,00	1,10
Сумма найденных продуктов	100,94	100,13	98,70	98,95
Сумма побочных продуктов	12,50	10,93	10,96	11,53

Опыт 2 — сбраживание глюкозы и гидролизата при равной концентрации гексоз. Результаты обоих опытов представлены в табл. 7.

Сходимость баланса ±1% говорит о том, что основные продукты, имеющие количественное значение, учтены. Для того чтобы удостовериться в происхождении найденных продуктов из сброженного сахара, но не из запасного гликогена дрожжей, последний был определен в одном из опытов до и после брожения.

Условия опыта	Гликоген в % от сух. веса дрожжей	Гликоген в г в опыте
До брожения	21,8	1,50
После брожения . .	22,9	1,66

Общая сумма побочных продуктов брожения всюду составляет 11—12% от истраченных гексоз. Из них наибольший удельный вес имеют: избыточная CO_2 и глицерин; уксусный альдегид почти не накапливается в среде. Причины различий в накоплении уксусной кислоты и ее значение при брожении раскрываются в наших дальнейших исследованиях.

Вопрос о сдвиге в накоплении отдельных продуктов при изменении условий брожения решался в следующей серии опытов путем балансового сбраживания 2,25% глюкозы с большим засевом дрожжей (20 г/л) и 10% глюкозы с малым количеством задаточных дрожжей (2 г/л), т. е. в тех же условиях, в которых было получено значительное различие в выходах

Таблица 8

Баланс продуктов при сбраживании глюкозы в различных условиях

		Опыт 1		Опыт 2	
		заводская культура		чистая культура раса XII	
Условия брожения	Глюкоза в %	2,25	10,00	2,25	10,00
	Задаточные дрожжи в г/л	20	2	20	2
	Срок брожения в час.	9	46	9	47
Продукты брожения в г на 100 г истрачен. сахара	Спирт	43,33	46,86	45,02	47,52
	CO_2 по спирту	41,40	44,77	43,31	45,40
	CO_2 избыточ.	5,70	2,63	3,02	1,00
	Уксусный альдегид	—	—	0,31	0,05
	Уксусная кислота	2,20	0,53	1,67	0,34
	Янтарная кислота	0,65	0,22	1,20	0,26
	Молочная кислота	0,22	0,33	0,90	0,49
	Глицерин	4,64	1,78	2,51	1,33
	Прирост сух. веса дрожжей	1,52	3,02	3,31	2,83
	Сумма найден. продуктов	99,66	100,14	101,25	100,29
	Сумма побочных продуктов	14,93	8,51	12,92	7,37
Расчеты к балансу	Выход спирта в % от теоретич.	84,7	91,6	88,0	92,9
	Задано дрожжей в опыт в г сух. веса	6,220	0,622	4,285	0,429
	Прирост дрожжей в опыте в г сух. веса	0,343	3,021	0,745	2,825
	Коэф-т прироста*	1,05	5,86	1,17	7,59

* Коэффициент прироста $= \frac{\text{сух. вес получ.}}{\text{сух. вес задан.}}$

спирта. Таким путем были испытаны заводские дрожжи и чистая культура раса XII. В табл. 8 представлены две пары балансовых опытов из ряда проведенных.

Учет продуктов брожения показал, что при резком изменении условий брожения, т. е. при увеличении срока брожения с 9 до 46 часов путем повышения концентрации сахара и снижения количества задаточных дрожжей, достигается повышение выхода спирта до 91—92% от теоретического за счет снижения накопления глицерина, уксусной кислоты и избыточной CO_2, а также частично янтарной кислоты.

Как известно, процессы образования этих продуктов коррелятивно связаны между собой уравнениями побочных реакций. Таким образом, мы находим ответ на интересовавший нас вопрос, какие именно вторичные реакции обладают пластичностью и могут быть заторможены путем изменения условий брожения.

Выводы

1. При замедлении процесса брожения путем повышения концентрации сахара и снижения количества задаточных дрожжей резко повышается выход спирта.

2. Повышение выхода спирта осуществляется за счет снижения накопления побочных продуктов брожения: глицерина, уксусной кислоты, избыточной CO_2 и частично янтарной кислоты.

Всесоюзный научно-исследовательский институт гидролизной и сульфитно-спиртовой промышленности
Ленинград

Получено 26. VII. 1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гваладзе В. Корреляции между продуктами алкогольного брожения. Изд. Закавк. ин-та виногр. и винод., Тбилиси, 1936.
2. Кардо-Сысоева Е. и Утенкова-Ранцан В. О выходе спирта при дрожжевом брожении. I. Учет фактического выхода спирта при сбраживании древесных гидролизатов. Микробиология, XXII, 551, 1953.
3. Кардо-Сысоева Е. и Утенкова-Ранцан В. О выходе спирта при дрожжевом брожении. II. Значение расы и условий воспитания дрожжей. Микробиология, XXII, 682, 1953.
4. Пастер Л. (Pasteur L.). Исследования о брожениях. Перевод. Сельхозгиз, 1937.
5. Genevois L. Les produits secondaires de la fermentation alcoolique en fonction du milieu, de la temperature, de la race de levure. Rev. ferm. ind. alim., **6**, 18, 1951.
6. Genevois L. Essais de bilans de la fermentation alcoolique due aux cellules de levures, Biochim. et biophys. Acta, **4**, 179, 1950.
7. Genevois L., Peynaud F. et Ribereau-Gayon J. Action de milieu sur les produits secondaires de la fermentation alcoolique des levures elliptiques. C. R. **226**, 126, 1943.
8. Genevois L., Peynaud E. et Ribereau-Gayon J. Sur une relation numérique entre les divers produits secondaires de la fermentation alcoolique. Bull., Soc. Chim. Biol., **31**, 369, 1949.
9. Guillemet R. Le bilan carboné de la fermentation alcoolique. C. r. Soc. Biol. **130**, 1402, 1939.
10. Heide C. von der u. Schwenk E. Abänderungen der Verfahren zur Bestimmung der Bernstein und Apfelsäure in Wein, *Z.* anal. Chem; **51**, 628, 1912.
11. Slosse A. Microdosage du glycogène. C. r. Soc. Biol., **97**, 1810, 1927.
12. Stockhausen F. u. Silbereisen K. Hefegummistudien. I. Die Bestimmung des Hefegummis in der Hefe. Wochenschr f. Brauerei, **52**, 145, 1935.
13. Tanaka Sh. u. Endo M. Methode zur quantitativen Bestimmung der Milchsäure in den tierischen Flüssigkeiten und Geweben. Bioch. *Z.*, **210**, 120, 1929.
14. Tasman A. De bepaling van melkzuur naast barnsteenzuur. Chemisch Weekblad, **29**, 694, 1932.

ЗНАЧЕНИЕ КИСЛОРОДА ДЛЯ ПРОРАСТАНИЯ ПОКОЯЩИХСЯ СПОРАНГИЕВ SYNCHYTRIUM ENDOBIOTICUM (SCHILB.) PERC.

Н. Н. Владимирская

В 1948 г., изучая прорастание покоящихся спорангиев возбудителя рака картофеля Synchytrium endobioticum по горизонтам пахотного слоя, мы обнаружили, что в нижних горизонтах на глубине 20—35 см. спорангии менее жизнеспособны. Здесь они прорастают на 15—30 дней позднее, чем в поверхностном слое почвы и количество проросших спорангиев резко падает.

Таблица 1

Состав почвенного воздуха на делянках под картофелем

Делянка № 1						Делянка № 2			
Глубина взятия проб в см	Влажность почвы в %	Порозность* в %	№ пробы	Содержание в % CO_2	Содержание в % O_2	Глубина взятия проб в см	№ пробы	Содержание в % CO_2	Содержание в % O_2
5	26	60,4 / 32,92	1	0,2	20,4				
			2	0,2	20,4				
			Среднее	0,2	20,4				
10	26	60,4 / 32,9	3	0,4	20,3	10	1	0,3	20,5
			4	0,4	20,1		2	0,4	20,3
			Среднее	0,4	20,2		Среднее	0,35	20,4
15	28	61,0 / 32,7	5	0,6	20,0	15	3	0,45	20,35
			6	0,6	20,0		4	0,45	20,15
			Среднее	0,6	20,0		Среднее	0,45	20,25
30	20		7	0,6	20,0	30	5	0,65	20,0
			8	0,6	20,0		6	0,65	20,0
			Среднее	0,6	20,0		Среднее	0,65	20,0
50	24		9	0,9	19,4	50	7	0,9	19,0
			10	0,6	20,0		8	0,8	19,6
			Среднее	0,7	19,7		Среднее	0,85	19,3
70	10		11	0,7	19,8	70	8	0,85	19,75
			12	0,6	20,2		9	1,0	19,50
			Среднее	0,65	20,0		Среднее	0,9	19,65

* Примечание. В виде дроби даны в числителе общая порозность 60,4%, в знаменателе — эффективная порозность, т. е. процент пор, не заполненных водой — 32,9%. Делянка № 1 — ранние сроки посадки картофеля; делянка № 2 — наличие возбудителя рака картофеля. Пробы почвенного воздуха взяты между гребнями.

Для объяснения этого явления нами было высказано предположение, что в нижних горизонтах пахотного слоя почвенный воздух содержит меньше кислорода, что отрицательно действует на процесс прорастания спорангиев. Чтобы доказать правильность этого предположения, мы в 1949 г. сделали анализ почвенного воздуха на содержание кислорода по различным глубинам пахотного слоя и подпочвенного горизонта. Анализ почвенного воздуха проводился по методу Вершинина и Поясова [1].

Данные анализа состава почвенного воздуха на делянках под картофелем приводятся в табл. 1.

Материалы, представленные в таблице, говорят о том, что содержание кислорода в верхних слоях почвы незначительно превышает содержание кислорода в нижних слоях. Среднее содержание кислорода колеблется от 20,4% до 19,6%. Незначительное снижение содержания кислорода в почвенном воздухе на глубине 20—35 см. от поверхности (на 0,2 и на 0,4%) не задерживает прорастания покоящихся спорангиев. В этом убеждают нас лабораторные эксперименты, поставленные для изучения влияния кислорода на энергию прорастания покоящихся спорангиев. Опыты имели целью установить кислородный минимум, который задерживает или прекращает прорастание покоящихся спорангиев.

Для решения поставленной задачи прорацивание покоящихся спорангиев проводилось в атмосфере с различным содержанием кислорода (16, 12, 3% и следы кислорода). В контроле спорангии прорацивались в обычном воздухе. Спорангии прорацивались в водопроводной воде, в фарфоровых выпаривательных чашках (первый вариант).

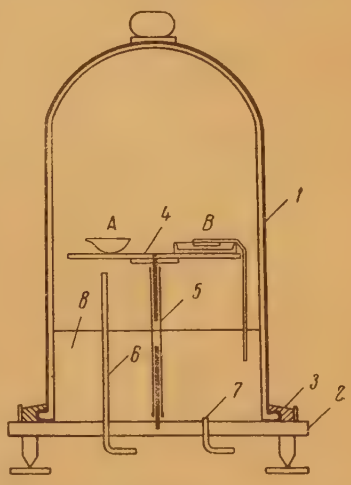


Рис. 1.

A — фарфоровая чашка со спорангиями; *B* — стеклянная подставка с предметным стеклом, обернутым фильтровальной бумагой, на которую наносились спорангии. *1* — стеклянный колпак; *2* — деревянная подставка; *3*—герметизирующая заливка (битум); *4* — столик; *5* — крепежная стойка. Стойка · столика; *6* — трубочка для газа; *7* — трубочка для жидкости; *8* — запирающая жидкость.

Второй вариант прорацивания — спорангии помещались на влажную подстилку. Подстилкой служила фильтровальная бумага, на которую рассыпались спорангии. Постоянное увлажнение подстилки достигалось тем, что свободный конец фильтровальной бумаги, которой обертывалось предметное стекло, погружался в воду. Спорангии в фарфоровой чашке и на влажной подстилке помещались под стеклянный колокол на столик. Воздух под колоколом содержал заданный процент кислорода. Искусственную «атмосферу» с различным содержанием в ней кислорода создавали под стеклянным колпаком разбавлением воздуха углекислым газом.

Стеклянные колпаки емкостью в 18 л. устанавливали на деревянной подставке — скамеечке (рис. 1). Нижняя часть нагретого колпака устанавливалась на слой битума и им же заливалась для изоляции от окружающего воздуха. Под колпаком был смонтирован деревянный подъемный столик и вводились две трубочки: одна для запирающей жидкости (вода), другая — для газа. На столик в фарфоровых чашечках ставились спорангии. Объем колпаков заранее измерялся и через каждые 0,5 л наносилась черточка (градуировка).

Для того, чтобы создать требуемую концентрацию кислорода, производился предварительный расчет.

Разбавление выполнялось следующим образом. Первоначально под колпак до черты 7,5 нагнетали воду (воздух выходил по газоотводной трубке), затем вводили углекислоту и сбрасывали воду до черты 17,5.

Таблица 2

Влияние кислорода на прорастание покоящихся спорангиев*

Концентрация кислорода в %	№ наблюдения	Проросших спор в воде в %	Проросших спор на влажной подстилке в %
16	1	21,7	15
	2	21,6	17
	3	32,5	16
	Среднее	25,2	19,3
12	1	21,4	11,0
	2	21,7	17,0
	3	21,6	16,0
	4	32,5	—
	Среднее	25,0	14,0
3	1	22,6	20,8
	2	31,4	16,0
	3	30,0	33,0
	Среднее	28,0	23,0
Следы кислорода	1	25,4	—
	2	21,0	—
	3	28,7	—
	Среднее	25,0	—
Контроль обычный воздух лаборатории	1	45,0	26,0
	1	46,0	33,0
	3	47,7	—
	Среднее	46,0	29,5

* Все варианты опыта по изучению влияния кислорода на прорастание покоящихся спорангиев проводились с материалом, собранным в 1948 г.

Прекратив сброс воды (ставился зажим), давали небольшой избыток CO_2, затем трубку, подающую CO_2 запирали. Таким образом был проведен опыт при 16, 12 и 3% кислорода и очень богатом содержании углекислоты.

Перед окончанием опыта каждый раз с помощью газоанализатора Норзе в качестве контроля определялась концентрация CO_2 и кислорода, при этом существенных отклонений от расчетных данных не обнаруживали.

В каждом варианте опыта покоящиеся спорангии выдерживались в течение двух недель. По истечении этого срока проводился микроскопический анализ состояния спорангиев. В каждом случае просматривались три препарата по 10 полей зрения. Общее количество спор в препарате было от 80 до 200 и более. Полученный материал сведен в табл. 2.

Содержание кислорода в воздухе, как видно из приведенных данных, имеет значение для прорастания спорангиев. От его количества в воздухе зависит энергия прорастания покоящихся спорангиев. В контроле, т. е. в условиях обычного воздуха лаборатории прорастало в воде в среднем 46% спорангиев, а на влажной подстилке — 29,5%. Уменьшение кислорода в воздухе до 16% (что встречается в природе под дерном старых многолетних залежей) резко снижает энергию прорастания покоящихся

спорангиев в сравнении с условиями контрольного опыта. Так, в условиях этого опыта (при 16% кислорода в воздухе) в воде прорастало спорангиев в среднем 25,2%, а на влажной подстилке — 19,3%. Дальнейшее снижение кислорода в воздухе до 12%, 3% и до минимальных следов кислорода не уменьшает количества проросших спорангиев. В этих опытах прорастание идет с одинаковой энергией, как в воздухе, содержащем 16% кислорода.

Выводы

Анализ материалов по изучению влияния кислорода на прорастание покоящихся спорангиев Synchytrium endobioticum показывает, что снижение кислорода в воздухе от 16 до 3% уменьшает энергию их прорастания во всех случаях в среднем на 21% в первом варианте опыта (проращивание спорангиев в воде) и на 12% во втором варианте опыта (проращивание спорангиев на фильтровальной бумаге).

Незначительная разница в содержании кислорода в почвенном воздухе по глубинам пахотного слоя (0,4%—0,2%) не является, очевидно, причиной снижения энергии прорастания спорангиев Synchytrium endobioticum в нижних слоях почвы. О действительной причине этого явления будет изложено несколько позднее.

Научно-исследовательская станция по раку картофеля
Ленинград

Получено 10. VII. 1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вершинин П. В. и Поясов Н. П., О методике анализа почвенного воздуха Доклады Всес. ордена Ленина Академии сельскохозяйственных наук, вып. 6, 34, 1950.

ПРИМЕНЕНИЕ ГОРИЗОНТАЛЬНЫХ ЗАМКНУТЫХ КЮВЕТ ДЛЯ СВЕТОФИЛЬТРОВ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО МИКРОСКОПА

Л. А. Миронов

Метод люминесцентной микроскопии открывает широкие перспективы в исследовательской практике в медицине и биологии.

Люминесцентный микроскоп может иметь любая лаборатория, располагающая обычным микроскопом. Для этого, как известно, даже необязательно иметь специальные источники ультрафиолетового света.

Мейселем [2, 3] и Замковым [1] описано использование для люминесцентного микроскопа принципа скрещивающихся светофильтров, при котором на люминесцентный препарат направляется фильтрованный жидкостным светофильтром синий свет; наблюдается же люминесценция препарата через желтый светофильтр, помещаемый перед глазом и отсекающий синий свет, мешающий работе. В сумме эти светофильтры дают темное поле.

Жидкостный светофильтр готовится следующим образом: в насыщенный раствор медного купороса добавляется 25%-ный раствор аммиака до растворения выпадающего вначале голубовато-зеленого осадка. Такой светофильтр пропускает участки видимого синего и фиолетового спектра в пределах 3800—4700 Å.

Для своей практической работы по некоторым видам люминесцентного микроанализа нами на кафедре медицинской физики использовалась методика скрещивающихся светофильтров.

В процессе практической работы выяснилось, что работать с вертикальной открытой кюветой для жидкостного светофильтра, как это предлагается Замковым, недостаточно удобно, так как каждый раз нужно устанавливать осветитель, кювету и микроскоп, причем система эта часто нарушается, особенно при работе в темной комнате. Все это мешает работе, отвлекает от исследования.

Кроме того, при работе с нашей горизонтальной кюветой, где пучок света проходит всегда перпендикулярно, исключаются некоторые потери света, имеющиеся при прохождении света под углом к кювете, что часто наблюдается при вертикальной открытой кювете.

Нами произведены измерения освещенности столика микроскопа объективным люксметром при различном расположении кювет и при прочих равных условиях (осветитель ИО-7 на расстоянии 10 см от зеркала микроскопа, толщина кюветы с вышеуказанным раствором жидкого светофильтра 4 мм).

При прохождении пучка света через кювету под углом в 50° освещенность равна 1050 лк, при прохождении пучка света перпендикулярно кювете освещенность равна 1260 лк [1].

При работе с люминесцентным микроскопом, где интенсивность освещения играет большую роль, потерю в 210 лк, что составляет 20% от 1050 лк, можно считать значительной.

В силу этого нами была изготовлена и успешно применена горизонтальная замкнутая кювета. Изготовляется она весьма просто (рис. 1).

[1] Примечание редакции: При нормальном расположении кюветы перед микроскопом осветитель обычно устанавливают так, чтобы свет проходил также перпендикулярно кювете. В этих условиях совершенно безразлично, где помещена кювета.

Из плоской резины вырезаются 4—5 квадратов (*а*) с отверстием в середине (*б*), равным конденсору микроскопа; эти квадраты вставляются в жестяную или латунную кассету (*г*), вырезанную и согнутую, как показано на рисунке.

Заполнение кюветы раствором жидкого светофильтра производится при помощи шприца и двух игл, вводимых между слоями резины (рис. 2). Через одну из игл в кювету входит раствор, через другую выходит воздух. Иглы рекомендуется брать достаточно толстыми, чтобы они не закупоривались выпадающим при высыхании кристаллическим осадком.

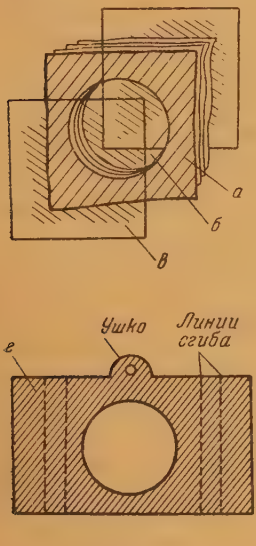


Рис. 1

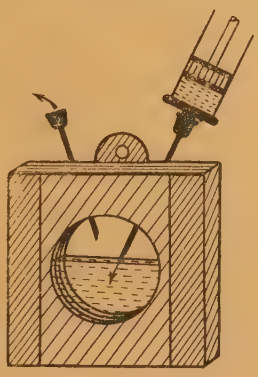


Рис.

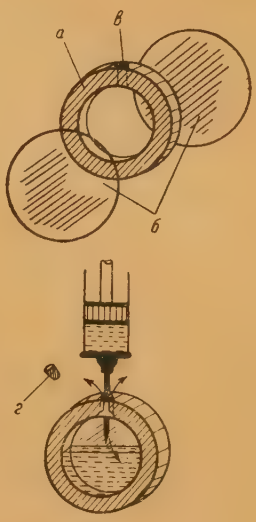


Рис. 3

Кювета прикрепляется винтом к столику микроскопа или к конденсору посредством ушка.

Еще более удобна кювета, которой мы сейчас пользуемся (рис. 3). Она склеивается из кольца (*а*) размером в обычный круглый светофильтр микроскопа, выточенного из пластинки органического стекла толщиной в 4 мм, и двух круглых стекол того же размера (*б*), вырезаемых из тонкой отмытой фотопластинки. Для склеивания берется клей «Рапид» или БФ-2.

Вместо обычного стекла, для изготовления стенок кюветы можно пользоваться органическим стеклом. Склеивание проводится так: кольцо из органического стекла опускается на минуту в органический растворитель, например дихлорэтан, и на его растворившуюся, клейкую поверхность наклеиваются круглые стенки — при затвердевании жидкого органического стекла получается монолитная кювета.

Заполняется кювета при помощи шприца через отверстие (в), закрываемое пробочкой из корки или органического стекла (*г*) или замазываемое пластелином.

Раствор светофильтра может не меняться годами.

В качестве желтого светофильтра можно применять фотографические светофильтры № 3 или № 4 [1], а то и просто кусочек отбеленной фотографическим закрепителем и окрашенной 10%-ным аурамином незасвеченной фотопластинки. Чтобы предотвратить люминесценцию желатины, окрашенной аурамином, на пути светового пучка перед этим кусочком ставится такой же светофильтр, окрашенный пикриновой кислотой. Одной окраски пикриновой кислотой бывает недостаточно при работе с сильным источником света. Стекла склеиваются по краям клеем, и та-

кой светофильтр мы не одеваем на окуляр микроскопа, а просто вкладываем его в окуляр, придав соответствующие размеры. Такой светофильтр пропускает участок спектра от 4900 до 7000 Å.

В качестве источника света при этом методе можно пользоваться любыми осветителями для микроскопии, снабженными низковольтовыми лампочками. Нами были получены неплохие результаты при использовании прямого солнечного света.

Выводы

Применение замкнутых кювет для светофильтров портативно, удобно, просто и доступно. Оно помогает использованию обычного микроскопа для люминесцентного анализа, способствуя внедрению люминесцентного микроскопа в повседневную практику медицинских, сельскохозяйственных и других лабораторий. Использование же солнечного света в качестве источника освещения дает возможность применять этот многообещающий метод в полевых условиях, при работе экспедиции и изыскательских партий.

Горьковский медицинский институт

Получено 26. VI. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

Замков В. А. Люминесцентный микроскоп в методе скрещивающихся светофильтров. Микробиология, XVII, 400, 1948.

Мейсель М. Н. Люминесцентно-микроскопический анализ функционального состояния живого вещества. Изв. АН СССР, XV, 791, 1951.

Мейсель М. Н., Кондратьева Т. и Помощникова Н. Функциональное состояние и реактивность структур клеточного протопласта. Журн. общ. биол., XII, 312, 1951.

РОЛЬ ФОСФОРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В БИОЭНЕРГЕТИКЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ОБМЕНА

(Обзор)

Ю. И. Сорокин

В микробиологию в последнее десятилетие все больше проникают физиолого-биохимические методы исследования, и обмен бактерий становится предметом классических биохимических исследований. Такое проникновение не случайно. Оно объясняется тем, что микроорганизмы сами по себе отличаются от других живых существ именно своей многообразной химической специфичностью, позволяющей им играть ведущую роль в круговороте веществ в биосфере. Поэтому изучение биохимии микробной клетки является единственным ключом к всестороннему познанию деятельности микроорганизмов в природе и к овладению этой деятельностью в практике. Однако привлечение бактерий в качестве объектов биохимических исследований представляет не только частный, но и большой общебиологический интерес. Много нового в этом отношении дали исследования, раскрывшие роль соединений фосфорной кислоты в обмене микроорганизмов. Эти исследования помогли подойти к решению таких важных общебиологических проблем, как проблема биохимического механизма полного окисления, проблема механизма фотосинтеза, проблема механизма ацетилирования и вопрос об ассимиляции углекислоты при гетеротрофном обмене.

В нашем обзоре мы ставим своей задачей суммирование и, по мере возможности, обобщение результатов исследований, касающихся выяснения роли фосфорных соединений в трансформации энергии биологического окисления в энергию синтетических реакций и других процессов, обеспечивающих жизнедеятельность микробной клетки.

Условные обозначения

ΔF — абсолютная величина изменения свободной энергии
ATP — аденозинтрифосфорная кислота
DPN — дифосфопиридиннуклеотид
TPN — трифосфопиридиннуклеотид
FAD — флавинадениннуклеотид
Co — кофермент
ADP — аденозиндифосфорная к-та

I. Общие принципы энергетической организации клеточного обмена

Основу биоэнергетики клетки составляют самопроизвольные химические реакции, подчиняющиеся законам термодинамики. Поэтому необходимо вкратце рассмотреть некоторые закономерности химической термодинамики, а именно те из них, которые определяют кинетику биохимических реакций.

Химические реакции, идущие в условиях биологических систем при постоянных давлении и объеме, протекают в направлении наиболее быстрого достижения термодинамического равновесия, которым определяется и химическое равновесие этих реакций. Реакции протекают тем энергичнее, чем больше величина изменения свободной энергии системы (ΔF) при течении данной реакции от начального состояния до состояния термодинамического равновесия. Эта величина равна максимальной

работе реакции. Поэтому она одновременно характеризует и степень химического сродства реагирующих компонентов. Самопроизвольные химические реакции при постоянных давлении и объеме идут всегда в направлении уменьшения свободной энергии системы. Константа равновесия K химических реакций определяется величиной ΔF ($\Delta F = -RT\ln K$). В зависимости от того, положительна или отрицательна эта величина для какой-либо реакции, мы можем судить о термодинамической возможности самопроизвольного течения данной реакции. Реакции, сопровождающиеся увеличением свободной энергии (ΔF положительна), называются эндоэргоничными. Такие реакции требуют протока энергии извне и самопроизвольно при постоянных давлении и объеме не протекают. Эндоэргоничные реакции в основном характерны для конструктивных процессов клеточного обмена.

Экзоэргоничные реакции, т. е. реакции, сопровождающиеся освобождением внутренней энергии реагирующих компонентов (ΔF отрицательна), протекают самопроизвольно. Реакции биологического окисления являются примером такого рода реакций в биологических системах. Обратимость химических реакций также определяется величиной ΔF. Свободно-обратимые реакции характеризуются положительным значением ΔF; реакции же, сопровождающиеся большим уменьшением свободной энергии ($-\Delta F = 4—5 \cdot 10^3$), практически необратимы.

Возможность течения биохимических реакций в определенном направлении определяется термодинамическими соотношениями, а не участием в этих реакциях ферментных систем. Ферментные системы выполняют лишь каталитические функции, ускоряя достижение равновесного состояния реагирующими компонентами. Ферменты ни в коей мере не способствуют преодолению тенденции реагирующих веществ к достижению равновесного состояния — эта тенденция может быть изменена лишь путем подведения внешней энергии к системе.

Каким же образом протекает в клетке эндоэргоничные реакции синтеза, самопроизвольное течение которых термодинамически невозможно?

Успешные исследования в области биохимии спиртового брожения и энергетики мышечного сокращения помогли подойти к решению этой важной проблемы; они дали возможность понять значение биологического окисления как источника химической энергии, необходимой для смещения термодинамического равновесия эндоэргоничных реакций конструктивного обмена в сторону синтеза, равно как и для других процессов жизнедеятельности, требующих притока внешней энергии. Взаимосвязь между процессами, освобождающими внутреннюю энергию химических соединений, и процессами, требующими потребления внешней энергии, осуществляется в клетке путем трансформации энергии биологического окисления в энергию макроэргических (богатых энергией) химических связей, которые образуют фосфорная кислота с рядом органических веществ (Энгельгардт и Любимова, 1942) — ΔF гидролиза таких связей составляет около 10—16 тыс. кал. Фосфороорганические соединения, содержащие макроэргические связи (обозначаемые знаком $\sim$), участвуют в эндоэргоничных реакциях конструктивного обмена и, привнося в эти реакции химически связанную энергию биологического окисления, смещают их термодинамическое равновесие в сторону синтеза.

Согласно общепринятым представлениям, из общего процесса обмена веществ в клетке можно выделить два потока реакций — реакции энергетического обмена и реакции конструктивного обмена.

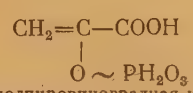
Существование таких двух потоков реакций обеспечивает клетке возможность, окисляя один или несколько органических или минеральных субстратов, синтезировать за счет выделяющейся при этом энергии бесконечное множество сложнейших органических соединений, входящих в состав протоплазмы, из простых 1—5-углеродных веществ.

Эти два потока реакций обмена веществ находятся в клетке в теснейшей взаимосвязи. Материальным связующим звеном энергетического и конструктивного обмена является система дикарбоновых кислот, через посредство которой осуществляется связь углеводного, жирового и белкового обмена в клетке (Браунштейн, 1947). Функцию энергетического моста между ними выполняют в основном соединения органического фосфата (Энгельгардт, 1945). В настоящее время известны 4 типа фосфороорганических соединений, которые подразделяются в зависимости от характера связей (Lippman, 1941).

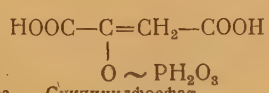
I тип. Соединения, содержащие макроэргическую связь $P-O\sim P$. Этот тип соединений представлен веществами, которые имеют громадное значение в обмене веществ в клетке. Сюда относятся нуклеиновые кислоты, коферменты нуклеотидного типа (кокарбоксилаза), метафосфаты и, наконец, основные акцепторы и переносчики макроэргических фосфатных группировок — аденозинполифосфаты, аденозиндифосфат (ADP) и аденозинтрифосфат (ATP).

II тип. Соединения, содержащие макроэргическую связь $N\sim P$. Сюда относятся креатинфосфат, аргининфосфат. Креатин- и аргининфосфаты у микроорганизмов пока не найдены.

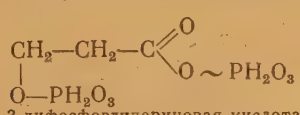
III тип. Энолфосфаты и карбоксилфосфаты. Соединения этого типа содержат макроэргическую связь $\overset{\|}{\underset{|}{C}}-O\sim P$ и представлены в клетке важным промежуточным продуктом спиртового брожения — фосфоэнолпировиноградной кислотой. Сюда же можно отнести сукцинилфосфат — предполагаемый предшественник α-кетоглютаровой кислоты при ее обратимом декарбоксилировании (Ail a. Werkman, 1948), а также карбоксилфосфаты: ацетилфосфат, бутирилфосфат и 1—3-дифосфоглицериновую кислоту.



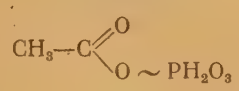
Фосфоэнолпировиноградная кислота



Сукцинилфосфат



1—3-дифосфоглицериновая кислота



Ацетилфосфат

IV тип. Представлен соединениями, которые содержат простую немакроэргическую эфирную связь, связывающую фосфорную кислоту со спиртовой группой: $C-O-P$. Так как ΔF гидролиза этих связей равна около 4.10^3 кал, то энергия указанной связи приблизительно соответствует энергии глюкозидной связи $C-O-C$.

Соединения такого типа представлены в клетке фосфорными эфирами сахаров (гексозо- и пентозо-фосфаты) и производных многоатомных спиртов (фосфоглицериновый альдегид и фосфоглицериновая кислота).

Вещества, содержащие связи $P-O\sim P$ и $N\sim P$ выполняют в клетке в основном функцию акцепторов и аккумуляторов макроэргических фосфатных группировок ($\sim PH_2O_3$), тогда как вещества, содержащие связь $\overset{|}{\underset{|}{C}}-O\sim P$, являются первичными продуктами фосфорилирования, сопряженного с дегидрированием окисляемого субстрата. Участие фосфорной кислоты в реакциях биологического окисления приводит к тому, что энергия этих реакций не выделяется в виде тепла, а перемещается в макроэргические фосфатные связи и покидает молекулы субстрата при образовании конечных продуктов окисления лишь в виде легко мобилизуемой клеткой химической энергии фосфатных группировок. Величина,

соответствующая количеству энергии фосфатной связи АТФ — основного переносчика фосфатных групп (12 000 кал), имеет близкие значения для макроэргических связей первых трех типов фосфороорганических соединений и поэтому обмен группами $\sim PH_2O_3$ между отдельными соединениями внутри этих трех типов сопровождается сравнительно небольшими изменениями свободной энергии. Таким путем энергия биологического окисления накапливается в клетке в виде химической энергии фосфатных связей в аккумуляторах макроэргического фосфата — нуклеиновых кислотах, нуклеотидах (АТФ и др.) и метафосфатах.

Участие фосфороорганических соединений в качестве источника энергии для эндоэргоничных реакций конструктивного обмена происходит в основном двумя путями.

1. Предварительное фосфорилирование реагирующих компонентов с АТР (схема):

$$1.\ R_1 + ATP \rightleftarrows R \sim PH_2O_3 + ADP.$$
$$2.\ R_1 \sim PH_2O_3 + R_2 \rightleftarrows R_1 \sim R_2 + H_3PO_4$$

2. Предварительный синтез фермент-субстратного комплекса (активированного субстрата) с участием АТР (схема):

$$3.\ R_1 + ATP \rightleftarrows R_1 \sim PH_2O_3 + ADP.$$
$$4.\ R_1 \sim PH_2O_3 + Co \rightleftarrows Co \sim R_1 + H_3PO_4$$
$$5.\ Co \sim R_1 + R_2 \rightleftarrows Co + R_1 \sim R_2$$

Суммарно:

$$6.\ R_1 + R_2 + ATP \rightleftarrows R_1 - R_2 + ADP + H_3PO_4 \quad \Delta F \lesssim O$$

Эндоэргоничная реакция без участия АТР будет выглядеть так (схема):

$$7.\ R_1 + R_2 \rightleftarrows R_1 - R_2 \quad \Delta F > O.$$

Таким образом, термодинамически невозможная реакция при участии в ней АТФ пойдет самопроизвольно.

Синтез фермент-субстратного комплекса может идти в ряде случаев и без помощи АТР: при непосредственном участии ферментов — переносчиков молекулярных группировок (таких, как трансглюкозидаза или трансацетилаза) в гидролитических реакциях. Такого рода механизм мы наблюдаем, например, при синтезе полисахаридов некоторыми бактериями.

Вышеизложенная точка зрения на соотношение энергетического и конструктивного обмена не является единственной.

Так, Таусон (1950) считает, что энергия биологического окисления не используется клеткой для синтетических реакций, так как последние, по его мнению, сами по себе являются экзотермическими.

Однако следует отметить, что расчеты энергетических эффектов биологических синтезов были сделаны Таусоном на основании суммарных уравнений обменных реакций. В действительности же эти реакции протекают в клетке ступенчато, через ряд промежуточных реакций, которые могут идти как с выделением, так и с поглощением энергии. Элементарные же реакции синтеза — синтезы связей C — C, C — N, C — H, COO — N, C — O — C, COO — P и т. д. идут, как правило, с увеличением свободной энергии, т. е. требуют притока энергии извне.

II. Синтез макроэргических фосфорных соединений в процессах энергетического обмена у микроорганизмов

1. Участие гликолитического механизма в обмене микроорганизмов

Участие фосфорных соединений в анаэробном разложении глюкозы дрожжевым соком было показано впервые Л. А. Ивановым.

Изучая в 1903 г. причины стимулирующего действия солей фосфорной кислоты на сбраживание сахара живыми дрожжами, Иванов обнаружил, что в процессе брожения фосфат исчезает, переходя в органические соединения. Далее, ему удалось изолировать эти соединения при помощи уксуснокислой меди и показать, что они являются фосфорилированными сахарами (Иванов, 1912). Все метаболиты анаэробного распада глюкозы (гликолиза), обнаруженные впоследствии, также оказались фосфорооргани́ческими эфирами (Энгельгардт, 1939).

Первые исследователи гликолиза объясняли значение фосфата в этом процессе тем, что последний, соединяясь с молекулой гексозы, делает ее менее устойчивой к разложению. Однако более глубокое изучение механизма гликолиза в мышечной ткани и спиртового брожения дрожжей привело исследователей к представлению о том, что фосфорилирование при гликолизе служит для превращения энергии, освобождающейся при разложении молекулы глюкозы на 2 молекулы пировиноградной кислоты, в химически связанную энергию макроэргического фосфата. Процент энергии гликолиза, связанной в виде химической энергии фосфатных групп, может достигнуть 90% (Lunsgaard, 1931).

При рассмотрении механизма этого удивительно экономического процесса бросается в глаза его многоступенчатость. Биологический смысл такой многоступенчатости заключается в том, что только таким путем может быть достигнуто наиболее полное усвоение клеткой энергии, выделяющейся за счет окислительно-восстановительной перестройки молекулы глюкозы. На 2 молекулы пировиноградной кислоты, которые образуются из 1 молекулы глюкозы, синтезируются $4 \sim PH_2O_3$. Их гидролиз дает 50 000 кал/моль энергии. Эта величина почти эквивалентна полной энергии превращения одного моля глюкозы в пировиноградную кислоту. Однако бóльшая часть связанной энергии (50%) теряется при предварительном фосфорилировании глюкозы ($\Delta F = -8000$ кал). В том случае, если гликолиз начинается не с глюкозы, а с полисахарида, потери энергии на предварительное фосфорилирование уменьшается до 25%, что может служить до некоторой степени объяснением предпочтительного отношения некоторых бактерий к сбраживанию полисахаридов по сравнению с глюкозой.

Тем не менее следует признать, что энергетическая эффективность гликолиза очень высока — «КПД» 50%—75% и что гликолиз сам по себе является поэтому целесообразнейшим биологическим приспособлением.

Многочисленными исследованиями было показано, что в бактериальной клетке в анаэробном распаде глюкозы принимает участие гликолитический механизм.

Впервые образование фосфорных эфиров при разложении глюкозы бактериями наблюдали Виртанен и Тикка (см. Werkman, 1939).

Фосфоролиз сахарозы у бактерий был обнаружен Коганом и др. (1942), которые, изучая механизм слизеобразования у Lactobact, mesenteroides, обнаружили, что в присутствии сахарозы этот организм энергично потребляет фосфат. Сахароза при этом подвергается фосфоролизу с образованием глюкозо-1-фосфата и фруктозы. Дудоров (Doudoroff, 1948) нашел активную бактериальную фосфорилазу в клетках Pseudomonas sacharophylia. Участие глюкозо-1-фосфата в углеводном обмене Corynebacterium diphteria и некоторых стрептококков было показано Гере и др. (Hehre и др., 1947).

Ле-Паж и Умбрейт (Le Page a. Umbreit, 1942), исследуя обмен облигатного автотрофа Thiobacillus thiooxidans, окисляющего серу в серную кислоту, установили, что этот организм может жить довольно долгий промежуток времени за счет эндогенного окисления запасного полисахарида, который накапливается в клетках в условиях обильного снабжения их серой и кислородом. При детальном изучении механизма распада это-

го полисахарида авторы обнаружили образование следующих промежуточных продуктов: глюкозо-1-фосфата, глюкозо-6-фосфата, фруктозо-6-фосфата, фруктозо-1—6-дифосфата, фосфоглицериновой кислоты и аденозинтрифосфата (Le Page, 1942; Le Page a. Umbreit, 1943). Таким образом, даже у облигатного автотрофа Thiobacillus thiooxidans разложение сахаров внутри клетки идет при помощи обычного гликолитического механизма. Обнаружение фосфоролиза у бактерий с совершенно различными типами обмена говорит в пользу того, что способность бактериальной клетки к использованию фосфорной кислоты вместо воды для разрыва глюкозидной связи, повидимому, свойственна многим бактериям.

Стоун и Веркман (Stone a. Werkman, 1937) изолировали один из главных метаболитов гликолиза — фосфоглицериновую кислоту — при сбраживании глюкозы суспензией клеток Cytrobacterium freundii в присутствии фторида.

В дальнейшем Веркман и др. (1936, 1937) изолировали фосфоглицериновую кислоту при сбраживании глюкозы суспензиями ряда других бактерий, в числе которых были Propionbacterium pentosaceum, Aerobacter indologenes, Azotobacter vinelandii, Bacillus mycoides.

Суспензии клеток бактерий, относящихся к роду Clostridium, фосфоглицериновой кислоты не накапливали.

Розенфельд и Симсон (Rosenfeld a. Simson, 1950), изучая механизм ацетонобутилового брожения, обнаружили, что одним из важных промежуточных продуктов этого брожения является фосфоэнолпировиноградная кислота. Аттер и Веркман (Utter a. Werkman, 1941) показали присутствие у бактерий ферментов гликолитического механизма — альдолазы и изомеразы. Липпман и Баркер (Lippman a. Barker, 1949) установили, что препарат из клеток Propionbact. pentosaceum активно катализирует перенос группы $\sim PH_2O_3$ с ATP на различные субстраты (глюкозу, глицерин). При окислении глюкозы в присутствии NaF и пировиноградной кислоты (в качестве акцептора водорода) наблюдалось связывание минерального фосфата. На 1 моль окисленной глюкозы связывалось 1—1,7 моля фосфорной кислоты.

Ряд работ был посвящен изучению фосфорилирования в нормально функционирующих клетках микроорганизмов. Виггерт и Веркман (Wiggert a. Werkman, 1938) установили, что при сбраживании глюкозы суспензией клеток Aerobacter aerogenes идет эстерификация ортофосфата и накопление в клетках органически связанного фосфата. В отсутствие глюкозы количество органического фосфата, находящегося в телах бактерий, уменьшалось при одновременном увеличении концентрации PO'''_4 в среде.

Левитов (1939) обнаружил, что сбраживание глюкозы суспензией Bact. coli сопровождается накоплением в клетках особой формы органически связанного фосфата, названной им «щелочно-гидролизуемый фосфор». Инкубация клеток Bact. coli в отсутствие глюкозы приводила к быстрому разрушению щелочно-гидролизуемого фосфора с освобождением неорганического фосфата. Это свидетельствует о том, что накопленный бактериальной клеткой в условиях хорошего питания органический фосфат может служить ей в случае необходимости источником энергии. Аналогичное явление он наблюдал и при изучении углеводного обмена дрожжей (Левитов, 1942). О Кэйн и др. (O'Kane и др., 1942), исследуя химический состав клеток Streptococcus faecalis при сбраживании ими глюкозы, наблюдали исчезновение ортофосфата из среды и образование в клетках этого организма глюкозо-1-фосфата, ATP и неидентифицированной формы органического фосфора. Авторы отмечают, что фосфорилирование в процессе гликолиза сопровождается накоплением калия в бактериальных телах. Связь калия с фосфорилированием при гликолизе была впоследствии подтверждена Болтоном (Bolton, 1950)

Адениловая система у бактерий изучена слабо, однако у различных авторов встречаются отдельные указания на важную роль ее в бактериальном обмене (Hersey a. Ajl, 1951).

2. Синтез ацетилфосфата

Открытие Липпманом в 1939 г. синтеза ацетилфосфата бактериальным препаратом имело большое значение для раскрытия путей улавливания клеткой энергии, выделяющейся при разнообразных анаэробных окислительно-восстановительных превращениях пировиноградной кислоты в бактериальных брожениях.

Изучая окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты препаратом высушенных клеток Lactobacterium delbrückii Липпман обнаружил, что эта реакция зависит от присутствия в среде ортофосфата. В присутствии иона P'''_4 и адениловой кислоты пировиноградная кислота окислялась этим препаратом до уксусной, причем окисление сопровождалось связыванием PO'''_4 в виде ATP:

$$8.\ CH_3COCOOH + H_3PO_4 + DPN + ADP \rightleftarrows CH_3COOH + ATP + DPNH_2 + CO_2.$$

Для объяснения механизма фосфорилирования, сопряженного с окислением пировиноградной кислоты, Липпман (1939) предложил образование в данном случае ацетилфосфата как промежуточного продукта этой реакции (по аналогии с образованием 1—3-дифосфоглицериновой кислоты при окислении фосфотриозы в процессе гликолиза). Он полагал, что ацетилфосфат превращается в уксусную кислоту, отдавая свою группу $\sim PH_2O_3$ на адениловую кислоту (Ad):

$$9.\ CH_3COOH + DPH + H_3PO_4 \rightleftarrows CH_3-C\begin{matrix}\diagup\!\!\!\diagup O \\ \diagdown O\sim PH_2O_3\end{matrix} + DPNH_2 + CO_2$$

$$10.\ 2CH_3-C\begin{matrix}\diagup\!\!\!\diagup O \\ \diagdown O\sim PH_2O_3\end{matrix} + Ad \rightleftarrows 2CH_3-COOH + ATP.$$

Дальнейшие исследования показали, что декарбоксилирование пировиноградной кислоты рядом бактериальных препаратов идет именно таким путем. Так Липпман и Татль (Lippman a. Tuttle, 1944, 1945) разработали методику определения ацетилфосфата и, применяя два различных метода, показали, что это вещество действительно образуется в эквивалентных количествах при декарбоксилировании пировиноградной кислоты препаратом Lactobac. delbrückii. Этот препарат катализировал также обратимый перенос группы $\sim PH_2O_3$ с ацетилфосфата на АДР и жирные кислоты (Lippman, 1944). Кроме того, Липпман разработал методику синтеза ацетилфосфата из ацетилхлорида и фосфорной кислоты, что позволило изучить его свойства. Ацетилфосфат оказался очень нестойким веществом. Период его самопроизвольного полураспада при pH-7 равен всего лишь нескольким часам. При действии сильных кислот и щелочей это вещество мгновенно гидролизуется. Хранить ацетилфосфат можно лишь в замороженном состоянии при температуре около —35°.

Одновременно фосфоролитическое декарбоксилирование пировиноградной кислоты было открыто с другими бактериальными препаратами: Копселл и Джонсон (Koepsell a. Johnson, 1942) установили, что препарат из клеток Cl. butylicum катализирует декарбоксилирование пировиноградной кислоты согласно следующему уравнению:

$$11.\ CH_3-CO-COOH + H_2O \rightleftarrows H_2 + CO_2 + CH_3COOH$$

Скорость этой реакции оказалась зависящей от концентрации PO'''_4 в среде, достигая максимума при концентрации последнего около 0,02 м (рисунок).

Изучая продукты фосфорилирования, которые накапливаются при исчезновении фосфата в процессе декарбоксилирования, авторы наблюдали образование лабильного фосфороорганического эфира. При добавлении глюкозы лабильный фосфат исчезал и наблюдалось образование глюкозофосфата. Этот препарат катализировал также перенос группы $\sim PH_2O_3$ с ацетилфосфата на масляную кислоту с образованием бутирилфосфата (Koepsell и др., 1944).

Аттер и Веркман (см. Липпман, 1946) в 1943 г. приготовили из клеток Bact. coli экстракт, интенсивно разлагающий пировиноградную кислоту в присутствии ионов PO'''_4 на ацетилфосфат и муравьиную кислоту. Однако Каплан и Липпман (Kaplan a. Lippman, 1948) показали, что при декарбоксилировании пировиноградной кислоты препаратом из клеток Bact. coli первоначально образуется какое-то лабильное фосфорное соединение, отличное по своим свойствам от синтетического ацетилфосфата. Это соединение очень быстро спонтанно превращается в ацетилфосфат, идентичный синтетическому.

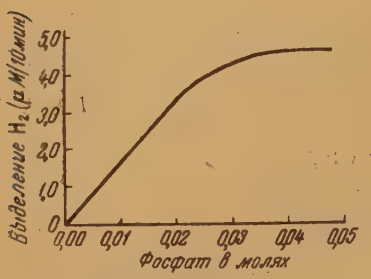


Рисунок. Влияние добавления фосфатов на скорости выделения водорода при декарбоксилировании пировиноградной кислоты экстрактами Cl. butiricum

Способность к фосфоролитическому декарбоксилированию пировиноградной кислоты была установлена недавно также у Cl. sporogenes и Cl. sacharobutyricum (Nisman, 1950).

Из приведенных выше данных следует, что способность катализировать декарбоксилирование пировиноградной кислоты с участием фосфата широко распространена среди бактерий, так как этой способностью обладают организмы родов Eubacterium, Bacillus, Mycobacterium, Micrococcus.

Биологический смысл замены гидролиза фосфоролизом при декарбоксилировании пировиноградной кислоты становится ясным при рассмотрении следующих уравнений: (Lippman, 1946).

12. Гидролиз: $CH_3COCOOH + H_2O + DPN \gtrless CH_3COOH + DPNH_2 + CO_2$;
$\Delta F = -17000$ кал.

13. Фосфоролиз: $CH_3COCOOH + H_3PO_4 + DPN \gtrless CH_3COOPH_2O_3 + CO_2 + DPNH_2$;
$\Delta F = -1000$ кал.

Следовательно, при фосфоролитическом декарбоксилировании энергия не рассеивается, а переходит в энергию фосфатной связи.

Образование ацетилфосфата как промежуточного продукта было отмечено и в других реакциях, катализируемых бактериальными препаратами. Викен, Ватт и др. (Wiken, Watt и др., 1947) привели данные, свидетельствующие об образовании ацетилфосфата при дисмутации двух молекул пировиноградной кислоты, катализируемой суспензией Streptococcus aureus.

Штадтман и Баркер (Stadtman a. Barker, 1949—1950) описали синтез ацетилфосфата в нескольких реакциях, катализируемых бесклеточным препаратом из клеток Cl. kluyveri — анаэробного организма, который получает энергию за счет дисмутации молекул этилового спирта в уксусную, масляную и капроновую кислоты.

Изучая реакции, связанные с этой дисмутацией, Штадтман и Баркер установили, что они идут при участии ортофосфата и с образованием ацетилфосфата.

Образование ацетилфосфата наблюдалось в следующих энзиматических реакциях:

а) фосфоролиз ацетоуксусной кислоты — одного из главных промежуточных продуктов распада и синтеза жирных кислот;

б) дисмутация 2 молекул ацетальдегида;
в) окисление масляной кислоты;
г) дисмутация 2 молекул винилацетата;
д) фосфоролиз винилацетата.

Далее Штадтман и Баркер разработали хроматографическую методику разделения 3-6-углеродных ацилфосфатов (соединения жирных кислот с фосфорной кислотой) и показали, что препарат из клеток Cl. kluyveri катализирует перенос группы $\sim PH_2O_3$ с ацетилфосфата на 3—6-углеродные жирные кислоты без участия АТР. Препарат этот катализировал также перенос фосфатной группы с ацетилфосфата на АДР и адениловую кислоту.

В заключение следует отметить, что почти все работы по биологическому синтезу ацетилфосфатов были выполнены с бесклеточными препаратами бактерий, что значительно снижает их ценность. В связи с этим, естественно, возникает вопрос о значении реакций, открытых на бесклеточных препаратах, в обмене нормально функционирующей бактериальной клетки.

3. Синтез соединений макроэнергетического фосфата, сопряженный с дыханием

В начале 30-х годов Энгельгардт сделал очень важное наблюдение. Изучая дыхание эритроцитов, он обнаружил, что аэробное окисление глюкозы сопряжено с участием фосфорной кислоты и ведет к связыванию последней в виде органических пирофосфатов.

Впоследствии Северин (1937) наблюдал синтез АТР, сопряженный с окислением α-кето- и аминокислот в ядерных эритроцитах, Белицер (1939) — в мышечной ткани.

Окислительное фосфорилирование было найдено и у бактерий. Фоглер и Умбрейт (Vogler a. Umbreit, 1942) показали, что окисление серы облигатным автотрофом Thiobacillus thiooxidans в отсутствии CO_2 сопряжено с синтезом соединений макроэргического фосфата в клетках этого организма за счет энергии окисления.

Аналогичное явление наблюдала Беляева (1951), работая с суспензиями водородокисляющих бактерий. Имеются данные о фосфорилировании, сопряженном с окислением бактериями глюкозы (Сорокин, 1952), дикарбоновых кислот (Hersey a. Ajl, 1951), жирных кислот и альдегидов (Stadtman a. Barker, 1949). Однако следует признать, что в отношении бактерий этот вопрос изучен пока очень слабо.

Рассмотрим более детально механизмы, обеспечивающие фосфорилирование за счет энергии биологического окисления.

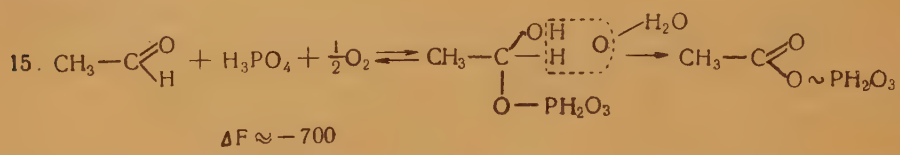
Фиксация энергии при окислении клеткой различных субстратов происходит путем участия фосфорной кислоты в трех основных типах реакций биологического окисления: 1) в реакциях дегидрирования, 2) в реакциях декарбоксилирования кетокислот, 3) в реакциях переноса электронов с окисляемого субстрата в направлении снижения их отрицательного потенциала. Поэтому материал, относящийся к этому вопросу, будет рассмотрен в том же порядке.

1) Синтез макроэргического фосфата при дегидрировании окисляемого субстрата. Дегидрирование обычно протекает с участием фосфата. Примером является дегидрирование фосфотриозы при гликолизе, которое сопровождается синтезом дифосфоглицериновой кислоты.

Рассмотрим механизм другой реакции дегидрирования — дегидрирование ацетальдегида в уксусную кислоту, которое, как предполагалось, идет с участием воды.

$$14.\ CH_3-C\begin{matrix}\diagup H\\ \diagdown O\end{matrix} + H_2O + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow CH_3COOH + H_2O;\quad \Delta F \approx -16700 \text{ кал.}$$

Баркер и Штадман (Barker a. Stadtman, 1948), работавшие с ферментным препаратом из клеток Cl. kluyveri, при более детальном изучении этой реакции обнаружили, что вместо воды в ней участвует фосфорная кислота.



$$15.\ CH_3-C\begin{smallmatrix}\nearrow O\\ \searrow H\end{smallmatrix} + H_3PO_4 + \tfrac{1}{2}O_2 \rightleftharpoons CH_3-C\begin{smallmatrix}\nearrow O\\ \searrow H\end{smallmatrix}-\begin{smallmatrix}H\\ H\end{smallmatrix}\ O\ \begin{smallmatrix}\nearrow H_2O\\ \searrow\end{smallmatrix} \longrightarrow CH_3-C\begin{smallmatrix}\nearrow O\\ \searrow O\sim PH_2O_3\end{smallmatrix}$$

$$\Delta F \approx -700$$

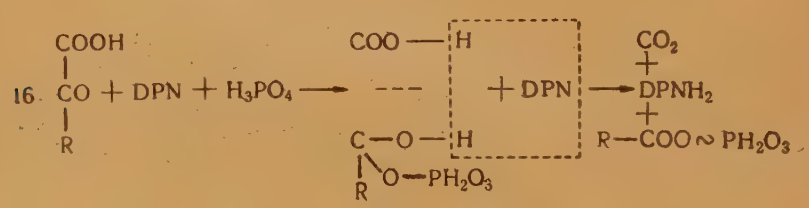
Следовательно, энергия, которая выделяется при окислении ацетальдегида в уксусную кислоту, фиксируется в виде энергии группы $\sim PH_2O_3$, ацетилфосфата, с которого эта группа легко переходит на АДР.

Интересные данные приведены в работе Херси и Эйль (Hersey и Ajl, 1951). Эти авторы изучали фосфорилирование, сопряженное с окислением янтарной кислоты в фумаровую ферментным препаратом из клеток Bact. coli, и установили, что без добавления ортофосфата окисление янтарной кислоты этими препаратами не идет. Добавление PO'''_4 стимулировало окисление янтарной кислоты в фумаровую. Окисление сопровождалось исчезновением PO'''_4 и накоплением в среде лабильно связанного органического фосфата. Потребление ортофосфата угнеталось, а окисление стимулировалось при добавлении ростовых ядов азида и 2—4-динитрофенола, блокирующих фосфорилирование. В ходе дальнейших исследований эти авторы применили хроматографическую методику для разделения соединений органического фосфата и при помощи меченого фосфора P^{32} показали, что исчезновение неорганического фосфата при окислении янтарной кислоты препаратом Bact. coli сопровождается вхождением его в состав АТР.

Следует подчеркнуть, что фосфорилирование, сопряженное с дегидрированием, играет особенно важную роль в обмене анаэробов.

2) **Фосфорилирование при декарбоксилировании кетокислот.** В реакциях этого типа так же, как и при дегидрировании, происходит аккумуляция в макроэргических связях той энергии, которая выделяется при снижении энергетического уровня всей молекулы окисляемого субстрата.

Липпман (1949) считает, что механизм реакций декарбоксилирования кетокислот сводится к следующему:



$$16.\ \begin{matrix}COOH\\ |\\ CO\\ |\\ R\end{matrix} + DPN + H_3PO_4 \longrightarrow \begin{matrix}COO-H\\ ---\\ C-O-H\\ |\\ R\ \ O-PH_2O_3\end{matrix} + DPN \longrightarrow \begin{matrix}CO_2\\ +\\ DPNH_2\\ +\\ R-COO\sim PH_2O_3\end{matrix}$$

Экспериментальный материал, доказывающий участие такого рода реакций в бактериальном обмене, отчасти приведен выше (стр. 14).

Здесь мы еще отметим работу Хюнтера (Hunter, 1949), показавшего, что ферментативное декарбоксилирование α-кетоглютаровой кислоты сопряжено с фосфорилированием.

Изучение путей связывания энергии, которая выделяется при декарбоксилировании кетокислот, представляет большой интерес с той точки зрения, что почти вся углекислота, выделяемая клеткой в процессе дыхания, образуется именно за счет декарбоксилирования кетокислот. Имеется ряд данных, говорящих о том, что окисление пировиноградной кислоты бактериальной клеткой происходит при промежуточном участии

ди- и трикарбоновых кислот, ступенчатое дегидрирование которых приводит к полному окислительному распаду пировиноградной кислоты (Ajl, 1951). Поэтому дальнейшее изучение механизма фосфоролитического декарбоксилирования, без сомнения, даст возможность еще глубже понять механизм многообразной окислительной активности бактериальной клетки.

3) Синтез макроэргического фосфата за счет энергии, выделяющейся при переносе электронов в направлении падения их потенциала. Основой биологического окисления является перенос электронов от окисляемого субстрата к восстановителю — акцептору электронов (Michaelis, 1951).

При переносе пары электронов от дегидрируемого субстрата до кислорода выделяется около 55 000 кал/моль энергии. Каким же образом эта энергия усваивается клеткой? Для ответа на данный вопрос рассмотрим некоторые экспериментальные данные.

Белицер (1939) установил, что при сопряженном с окислением фосфорилировании в мышце на 1 моль окисленной глюкозы связывается 24 моля макроэргического фосфата. Это заставило его предположить, что часть макроэргического фосфата фиксируется при транспорте электронов от $DPNH_2$ до O_2, так как дегидрирование и декарбоксилирование могли дать менее половины этого количества макроэргического фосфата. Действительно, по данным Лёнингера и Смита (Lehninger a. Smith, 1949), ферментативное окисление $DPNH_2$ связано с фосфорилированием. На каждую окисленную молекулу $DPNH_2$ синтезируется 2 молекулы ATP из ADP, которые связывают 47% полной энергии окисления $DPNH_2$[1]. Следовательно, фосфорилирование, сопряженное со ступенчатым снижением потенциала электронов, можно считать процессом, который действительно имеет место в биологических системах.

Многоступенчатость транспорта электронов, которая обусловлена участием в этом процессе целой системы переносчиков, обеспечивает многократное фосфорилирование и тем самым способствует наиболее полному усвоению энергии биологического окисления.

Относительно механизма фосфорилирования, сопряженного с переносом электронов, существуют пока только предположения, экспериментально не доказанные.

Липпман (1949) полагает, что в этом процессе участвуют промежуточные соединения, содержащие карбонильную группу R — CO — R. Такими соединениями могут быть, по его мнению, дикарбоновые кислоты (например, щавелевоуксусная кислота) или соединения типа аскорбиновой кислоты.

Сопряженное с переносом электронов фосфорилирование является одним из основных процессов энергетического обмена, так как оно обеспечивает усвоение клеткой большей части энергии биологического окисления. У некоторых же бактерий вся энергия биологического окисления улавливается именно таким путем — это бактерии, у которых окисление не связано с предварительным фосфорилированием самого субстрата.

Сюда можно отнести:

а) Организмы, окисляющие минеральные субстраты (хемоавтотрофы). Бактериальная клетка использует в этом случае энергию, которая выделяется при переносе электронов с какого-либо минерального субстрата (S'', S, $Fe^{\cdot\cdot}$, NH_3, H_2, CH_4 и др.) на другие вещества (O_2, CO_2 SO_4'', NO_3''), имеющие более высокий по сравнению с этим субстратом окислительно-восстановительный потенциал.

б) Фотосинтезирующие организмы, которые, как известно, способны использовать как энергию окисления молекулярного водорода (Gaffron, 1942), так и энергию окисления восстановителей (типа $DPNH_2$), образу-

[1] По данным Хюнтера (1949), эта величина вдвое больше.

ющихся при фотолизе воды или других донаторов водорода (Vishniac a. Ochoa, 1952).

в) Гетеротрофные организмы, у которых окисление не сопровождается фосфорилированием самих молекул субстрата. К таким бактериям можно отнести Ps. aeruginosa — аэробный организм, который, как установили Кампбелл и Норрис (Campbell a. Norris, 1950) и Варбуртон (Warburton и др., 1951), окисляет глюкозу путем прямого дегидрирования нефосфорилированной молекулы. Промежуточными продуктами окисления являются глюконовая, 2-кетоглюконовая и пировиноградная кислоты.

Из сказанного выше можно заключить, что изучение механизма фосфорилирования, сопряженного с переносом электронов, должно явиться ключом к пониманию важнейших сторон энергетического обмена как гетеротрофных, так и в особенности автотрофных микроорганизмов.

4. Ферментные яды, тормозящие фосфорилирование (азид и 2—4-динитрофенол)

Ростовые яды азид и динитрофенол широко используются в биохимических исследованиях благодаря своей способности избирательно тормозить синтетические процессы в клетке, не влияя на дыхание и брожение. Это свойство ростовых ядов было подробно изучено на бактериальном материале Клифтоном (Clifton, 1943). Гочкис (Hotchkiss, 1944) и Люмис и Липпман (Loomis a. Lippman, 1948) привели данные, показывающие, что азид и динитрофенол тормозят сопряженное окисление — фосфорилирование. Та же закономерность была установлена Сорокиным (1952) на Bacillus acetoethylicus в качестве объекта. Механизм действия азида и динитрофенола неодинаков. В то время как динитрофенол, повидимому, разрывает непосредственную связь окисления и фосфорилирования, азид тормозит использование соединений макроэнергического фосфата в реакциях биосинтеза. Это предположение согласуется с данными Херси и Эйль (Hersey a. Ajl, 1951), показавших, что динитрофенол тормозит фосфорилирование в бесклеточных препаратах бактерий, тогда как азид в этих условиях тормозящего действия не оказывает. Следовательно, азид прерывает сложные реакции синтеза, для течения которых нужна клеточная структура.

III. Участие фосфорных соединений в реакциях биосинтеза

1. Гетеротрофная ассимиляция углекислоты

Гетеротрофная ассимиляция углекислоты, открытая впервые русским ученым Лебедевым (см. Работнова, 1950), является процессом, физиологическую значимость которого для микроорганизмов трудно переоценить. Аэробные микроорганизмы при участии CO_2 синтезируют дикарбоновые кислоты, участвующие в дыхании, а также жирные кислоты и аминокислоты; анаэробные микроорганизмы, кроме того, используют CO_2 в качестве дополнительного акцептора водорода (Ajl, 1951; Шапошников, 1952).

Недавние исследования говорят в пользу того, что гетеротрофная ассимиляция углекислоты протекает путем карбоксилирования моно- и дикарбоновых кислот дыхательного цикла: уксусной, пировиноградной и янтарной с участием энергии фосфорных соединений.

1) Карбоксилирование уксусной кислоты. При изучении реакций фосфоролиза пировиноградной кислоты бактериальными препаратами при помощи меченого углерода было обнаружено, что эта ферментативная реакция обратима (Utter и др., 1945). Взвесь клеток Bact. coli синтезировала из уксусной кислоты в присутствии ATP и $C^{14}O_2$ пировиноградную кислоту, меченную в карбоксильной группе. По данным Липпмана и Татла (1944a, 1945a), бактериальный препарат синтезирует в ощутимых количествах пировиноградную кислоту из аце-

тилфосфата и HCOOH. Вильсон и др. (Wilson, 1948) показали с применением C^{13}, что препарат из клеток Cl. butylicum в присутствии ATP и H_2 фиксирует CO_2 в карбоксильную группу пировиноградной кислоты.

2) Карбоксилирование пировиноградной и янтарной кислот. Аттер и Вуд (Utter и Wood, 1946) установили, применяя C^{14}, что реакция Вуда — Веркмана [2] сильно ускоряется в присутствии ATP, причем наибольший эффект ускорения достигается в диализированных ферментных препаратах. Далее, рядом авторов было установлено, что очищенная карбоксилаза из клеток некоторых бактерий не катализирует карбоксилирование пировиноградной кислоты даже в присутствии ATP. Эти данные говорят о том, что механизм β-карбоксилирования сложнее, чем простое обратимое декарбоксилирование с участием ATP. Кроме того, не исключена возможность участия в реакции Вуда — Веркмана у бактерий иного фосфорного соединения — донатора энергии, чем ATP. По данным Очоа (Ochoa, 1951), фиксация CO_2 полуочищенным препаратом из клеток Micrococcus lyzodeicticus зависит от присутствия неорганического фосфата, который, очевидно, связывается в органической форме при частичном окислении пировиноградной кислоты этим препаратом. В присутствии же DPN указанный препарат катализирует синтез яблочной кислоты из CO_2 и пировиноградной, причем последняя реакция не зависит от наличия фосфата. Очоа заключает, что, повидимому, CO_2 и пировиноградная кислота реагируют между собой, образуя какой-то промежуточный комплекс, который при участии ATP или другого донотора макроэргического фосфата превращается в щавелевоуксусную, а при участии $DPNH_2$ восстанавливается до яблочной кислоты.

Эйль и Веркману (1948) удалось показать, что реакция декарбоксилирования α-кетоглютаровой кислоты, катализируемая ферментными препаратами из клеток Bact. coli, обратима, причем течение этой реакции в обратном направлении, т. е. фиксация CO_2, сильно ускоряется при участии в этой реакции ATP. Авторы считают, что промежуточным продуктом при фиксации CO_2 в карбоксил α-кетоглютаровой кислоты является сукцинилфосфат.

2. Фосфорилирование и хемосинтез

Фоглер (Vogler, 1942), изучая механизм хемосинтеза у облигатно-автотрофной бактерии Thiobacillus thiooxidans, окисляющей серу в серную кислоту, обнаружил, что при окислении этим организмом серы и отсутствии CO_2 часть энергии окисления может запасаться внутри клеток в виде химической энергии каких-то запасных веществ и затем использоваться для усвоения CO_2 в таких условиях, когда окисление серы исключено.

Далее, Фоглер и Умбрейт (1942) показали, что окисление серы в отсутствие CO_2 сопровождается синтезом органических фосфатов в бактериальной клетке. Усвоение CO_2 в отсутствие окисляемой серы сопровождалось, наоборот, переходом органического фосфата в минеральный. Ле-Паж и Умбрейт (1943) идентифицировали эти фосфорные соединения и показали, что они являются смесью различных фосфорных эфиров, среди которых были некоторые метаболиты гликолиза и аденозин-3-трифосфат [3]. Они считают, что именно последнее соединение является непосредственным продуктом фосфорилирования, сопряженного с окислением серы.

По данным Беляевой (1951), у водородных бактерий, использующих для усвоения CO_2 энергию реакции гремучего газа, процесс хемосинтеза так же, как и у Th. thiooxidans, можно разделить во времени на фазу

[2] Карбоксилирование по реакции Вуда — Веркмана совершается путем присоединения CO_2 к метильной группе пировиноградной кислоты.

[3] ATP является аденозин-5-трифосфатом.

окисления водорода в отсутствие CO_2 и фазу ассимиляции CO_2 за счет запасенной энергии окисления. Оказалось, что фаза окисления водорода в отсутствие CO_2 сопровождается фосфорилированием и накоплением в телах бактерий органического фосфата, а фаза ассимиляции CO_2 в отсутствие H_2 и O_2 — дефосфорилированием органического фосфата и выделением PO'''_4 в среду. Далее, Беляева показала, что значительную часть органического фосфора, накапливающегося при фосфорилировании в бактериальных телах, составляет АТР и что в процессе ассимиляции CO_2 ее содержание в клетках резко снижается.

Учитывая ряд выводов сравнительной биохимии и изложенные выше экспериментальные данные, можно полагать, что основными промежуточными реакциями хемосинтеза являются:

а) окисление минеральных веществ;

б) сопряженное с этим окислением фосфорилирование;

в) фиксация CO_2 посредством карбоксилирования предварительно фосфорилированных соединений;

г) восстановление фосфорилированных карбоксильных групп.

3. Фосфорные соединения и трансацетилирование

В последнее время накапливаются очень интересные данные, говорящие об исключительно важной роли, которую играет образование и перенос активированных ацетильных группировок в узловых реакциях, объединяющих энергетический и строительный обмен. Было показано, что именно активный ацетат является единым донатором ацетильных групп при ферментативном ацетилировании различных соединений, в том числе щавелевоуксусной и уксусной кислот, холина и сульфаниламида.

Результаты ряда последних исследований говорят в пользу того, что «активный ацетат» — это не что иное, как ацетилированное производное коэнзима А (CoA) — фактора ацетилирования. CoA, по данным Липпмана и др. (1950), содержит 11,3% пантотеновой кислоты, 9,1% фосфора, 20% аденина и 22% рибозы. Ацетильная группа присоединяется к одной из групп CoA, образуя лабильную макроэргическую метилмеркаптановую связь. Энергия связи C — S «активного ацетата» приблизительно соответствует энергии макроэргической связи АТР, т. е. 12 000 кал. Чоу и др. (Chou и др., 1950), удалось получить из клеток бактерий фермент трансацетилазу. Этот фермент осуществлял обратимый перенос ацетильных групп с ацетилфосфата на CoA. Перенос ацетильных групп с «активного ацетата» на другие соединения происходит при участии конденсирующего фермента, найденного в бактериях и дрожжах и выделенного в кристаллическом виде (Stern и др., 1952).

Крокес и др. (Krokes и др., 1950) установили, что дисмутация двух молекул пировиноградной кислоты с образованием ацетилфосфата, молочной кислоты и CO_2, которую катализируют препараты из клеток B. coli и Streptococcus faecalis, протекает лишь в присутствии фосфата и CoA. Фосфат в этой системе может быть заменен щавелевоуксусной кислотой без снижения скорости дисмутации. Однако в последнем случае, вместо ацетилфосфата, образуется лимонная кислота, так как акцептором ацетильных групп является при этом не фосфорная кислота, а щавелевоуксусная:

$$17.\ 2CH_3COCOOH \xrightarrow{CoA} CH_3 - CHOH - COOH + CO_2 + CoA \ldots$$

$$\ldots CH_3COOPH_2O_3\ \text{а)}$$

$$\ldots CH_2COOH\ \text{лимонная к-та б)}$$

(H_3PO_4)

щав.-укс. к-та

Авторы считают, что реакция а) катализируется трансацетилазой, а реакция б) — конденсирующим ферментом.

Анализируя приведенные данные, можно сделать вывод о том, что, повидимому, существует единый ацетилирующий комплекс «активный ацетат». В синтезе «активного ацетата» важную роль играют фосфорные соединения, энергия которых способствует поднятию молекул уксусной кислоты до того высокого энергетического уровня, на котором она находится, входя в состав «активного ацетата».

4. Синтез ди- и полисахаридов

Энергия эфирных связей фосфорилированных сахаров приблизительно соответствует энергии глюкозидной связи. Поэтому фосфоролиз полисахаридов является реакцией, вполне обратимой.

Так, по данным Когана и др. (1942), Lactobact. mesenteroides использует в качестве исходного материала для синтеза декстрановой слизи глюкозо-1-фосфат. Дудоров и др. (1947) показали, что ферментный препарат из клеток Pseudomonas saccharophylia синтезирует сахарозу из глюкозо-1-фосфата и фруктозы. Гере и др. (1947) наблюдали образование Corynebact. diphteriae и некоторыми стрептококками крахмалоподобного вещества (смеси амилозы и амилопектина) при выращивании указанных бактерий на среде 2%-ного глюкозо-1-фосфата. Ни глюкоза, ни фруктоза не заменяли в этих опытах глюкозо-1-фосфата.

При изучении механизма обратимого действия бактериальных фосфорилаз выяснилось, что синтез ими дисахаридов идет через стадию присоединения глюкозы к ферменту посредством связи энергетически равноценной глюкозидной. В данном случае роль фосфорилированных сахаров заключается в облегчении синтеза фермент-субстратного комплекса, соединение компонентов которого требует затраты энергии около 4000 кал/моль. Эта энергия и привносится эфирной связью глюкозо-1-фосфата.

5. Синтез нуклеиновых кислот, коферментов, содержащих фосфатные группы, и метафосфатов

Важные свойства нуклеиновых кислот: базофилия, способность к полимеризации, а также, повидимому, и участие этих веществ в биологических синтезах и, в частности, в синтезе белков обусловливаются тем, что в их состав в большом количестве входят фосфатные группировки. Имеются данные, показывающие участие ATP в синтезе нуклеотидов и нуклеиновых кислот.

В недавнее время из пекарских дрожжей были изолированы ферменты катализирующие реакции переноса фосфатных групп ($\sim PH_2O_2$) между различными коферментами нуклеотидного типа. Так, Штрекер и Корнберг (Strecker a. Kornberg, 1950) выделили фермент, катализирующий обратимый синтез флавинадениндинуклеотида (FAD) из ATP и рибофлавинфосфата (RFP):

$$18.\ ATP + RFP \rightleftarrows FAD + O\begin{matrix}PH_2O_3\\PH_2O_3\end{matrix}$$

В результате такой реакции образуется, кроме FAD, еще и молекула пирофосфата. Реакция обратима. При течении ее в обратном направлении в синтез вовлекается пирофосфат (или метафосфат). Этот факт проливает некоторый свет на механизм участия метафосфатов в фосфорном обмене.

Далее, был выделен фермент, осуществляющий следующие обратимые реакции (Kornberg, 1950):

а) синтез DPN из никотинамидмононуклеотида (NAMN) и ATP;

б) синтез трифосфопиридиннуклеотида (TPN) из DPN при участии ATP.

Бреслер и Нидзян (1950) наблюдали ферментативный перенос меченого фосфора с ATP на рибонуклеиновую кислоту. Таким образом, приведенные данные указывают на возможность переноса групп $\sim PH_2O_3$ между различными нуклеотидами, что, вообще говоря, следовало ожидать.

Синтез метафосфатов в клетке грибов тесно связан с общим процессом окислительного фосфорилирования. Образование метафосфата в клетках блокируется дыхательными ядами и ядами, тормозящими окислительное фосфорилирование (Mann, 1944). Метафосфаты накапливаются в клетках грибов в условиях интенсивного углеводного и фосфорного обмена и, повидимому, несут в клетке функцию запасного вещества — донатора макроэргических фосфорных группировок, используемых в случае необходимости на нужды синтетических реакций.

6. Фосфорилирование и синтез пептидной связи

Несомненно, что наиболее вероятным источником энергии для синтеза пептидной связи в процессах клеточного обмена является биологическое окисление. Действительно, было показано, что синтез пептидной связи глютамина в животных тканях сопряжен с окислением глюкозы, которое служит источником энергии для указанного синтеза. В связи с этим было высказано предположение, что переносчиком энергии окисления глюкозы для синтеза глютамина являются фосфорные соединения и, в частности, ATP. Эллиот (Elliot, 1948) подтвердил это предположение экспериментально, показав, что ферментативный синтез пептидной связи в молекуле глютамина протекает только в присутствии ATP. Эллиот и Гэйл (1948) обнаружили ферментные системы, катализирующие эту реакцию, в клетках Streptococcus aureus.

Синтез пептидной связи в молекуле полипептидов, по данным ряда исследователей, происходит также с участием ATP. Ват и Эйль (Wheat a. Ajl — см. Ajl, 1951), применяя меченый глицин, показали, что синтез простейшего полипептида — глютатиона в экстракте из клеток кишечной палочки протекает в несколько раз быстрее при параллельном окислении этим экстрактом янтарной кислоты. Эти авторы считают, что эффект ускорения связан с синтезом ATP при окислении янтарной кислоты.

В настоящее время уже имеются данные, позволяющие представить себе сам механизм участия фосфорных соединений в синтезе пептидной связи. Возможно, что в основе этого механизма лежит предварительное фосфорилирование реагирующих компонентов. В пользу этого говорят, например, данные Штадтмана и др. (1952). Эти авторы обнаружили, что препарат из клеток Cl. kluyveri начинает интенсивно разрушать ацетилфосфат при добавлении 0,1 M цианида. Оказалось, что цианид стимулирует ацетилирование аминокислот, входящих в состав белка, при участии ацетилфосфата:

$$19.\ R - CHNH_2 - COOH + CH_3COOPH_2O_3 \rightleftarrows R - \underset{\displaystyle COOH}{\underset{|}{CH}} - NH - \underset{\displaystyle O}{\overset{\|}{C}} - CH_3 + H_3PO_4$$

При инкубации свободных аминокислот лейцина, глицина с ацетилфосфатом и с препаратом Cl. Kluyveri в присутствии KCN наблюдался синтез ацетиллейцина и ацетилглицина.

Некоторые исследователи полагают, что непосредственными донаторами макроэргических фосфатных групп для обеспечения энергетических нужд белкового синтеза являются нуклеиновые кислоты и нуклеопротеиды. Многочисленные данные ряда школ цитологов и цитохимиков (Белозерский, 1948; Дэвидсон, 1952; Кедровский, 1946) показывают, что повы-

шенная базофилия цитоплазмы клеток в период их наиболее интенсивной синтетической деятельности — в период роста — связана с накоплением в них большого количества нуклеиновых кислот. Этот факт можно считать веским доказательством существования определенной связи нуклеиновых кислот с процессами белкового синтеза.

Согласно представлениям Бреслера (1950), пептидная связь молекулы белка синтезируется за счет энергии макроэргических фосфатных связей нуклеопротеидов, входящих в состав митохондрий и микрозом, пограничные слои которых и являются, по мнению Бреслера, той рабочей поверхностью, на которой синтезируется белок.

7. Регулирующее действие фосфорного обмена

Обмен соединений фосфора несет в клетке функцию регулятора многих биохимических процессов. Такие факторы, как концентрация минерального фосфата, наличие или отсутствие акцепторов макроэргических фосфатных группировок ($\sim PH_2O_3$), активность клеточных фосфатаз — ферментов, гидролизующих ATP, имеют иногда решающее значение в определении интенсивности и направленности обмена веществ в клетке (Kaplan, 1951).

По данным Сейца и Энгельгардта (1949), столь важная регулирующая функция клеточного обмена, как пастеровская реакция (торможение брожения в условиях аэрации), тесно связана с фосфорилированием.

Заключение

Изложенные выше результаты многочисленных экспериментальных работ указывают на то, что биоэнергетика обмена микроорганизмов построена по тому же принципу, что и у высших многоклеточных организмов. Они показывают, что и у микроорганизмов биологическое окисление сопряжено с синтезом специфических богатых энергией фосфорных соединений, которые несут в клетке функцию аккумуляторов и переносчиков энергии. Особенно отчетливо эта функция фосфорных соединений была вскрыта в исследованиях хемосинтеза у тионовых и водородных бактерий.

Принципиальное значение результатов работ по изучению роли фосфорных соединений в обмене микроорганизмов заключается в дальнейшем экспериментальном обосновании представления о том, что современные микроорганизмы, вопреки прежним концепциям, не являются примитивно организованными, первичными формами жизни, ибо по сложности биохимической организации и по многообразию своей химической деятельности клетки микроорганизмов не только не уступают, но иногда и превосходят односторонне специализированные тканевые клетки высших организмов. Далее, значение указанных работ состоит в подтверждении принципа единства биохимической организации обмена всех форм жизни, который лежит в основе сравнительно биохимического подхода к изучению клеточного обмена. Наконец, при изучении фосфорного обмена микроорганизмов и их окислительной активности были открыты новые, ранее не известные фосфорные соединения, такие, как ацетилфосфат, аденозин-3-трифосфат, метафосфаты и коэнзим А.

Отметим в заключение, что многие работы по изучению биохимии клеточного обмена были проведены с экстрактами и взвесями клеток в условиях резкого нарушения их жизнедеятельности. Поэтому мы не имеем возможности с достаточной достоверностью судить об истинной роли многих, хорошо изученных in vitro ферментативных процессов, в обмене нормально функционирующей клетки. Но тем не менее не следует и преуменьшать значения упомянутых выше работ, ибо они являются начальным и поэтому необходимым этапом в изучении химизма обмена веществ. Совре-

менный прогресс в методике биохимических и физиологических исследований предоставляет возможность более внимательно учитывать физиологическое состояние клетки как при постановке опытов, так и при анализе полученных результатов. В этом отношении много нового могут дать методы, сочетающие применение «меченых» атомов, разделительной хроматографии и радиоавтографии.

Несомненно, что новые методы исследования в сочетании с правильным физиологическим подходом к живой клетке как к целому позволят еще глубже проникнуть в тайны клеточного обмена — основы жизни.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 12. II. 1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

Белицер Б. А., Цыбакова Е. Т. О механизме фосфорилирования, сопряженного с дыханием. Биохимия, **4**, 516, 1939.
Белозерский А. Н. Совещание по белку. 1948, стр. 146.
Беляева М. И. Диссертация. Москва, 1951. Библиотека ОБН. АН СССР.
Бреслер С. Е. Некоторые соображения о биосинтезе белка. Успехи совр. биол., **30**, 90, 1950.
Бреслер С. Е., Нидзян Е. И. О ферментативной реакции переноса фосфата с аденозинтрифосфорной к-ты на рибонуклеиновую к-ту. ДАН СССР, LXXV, 79, 1950.
Браунштейн А. Е. Переаминирование и интегрирующие функции дикарбоновых кислот в азотистом обмене. Сб. «Успехи совр. биохимии», **1**, 40, 1947.
Давидсон Г. Биохимия нуклеиновых кислот. 1952. Изд. иностр. лит.
Иванов Л. Über die Synthese der phosphoorganischen Verbindungen in abgetöteten Hefezellen. Z. Physiol. Chem., **50**, 281, 1906.
Иванов Л. Об участии фосфатов в спиртовом брожении. 1912.
Кедровский Б. В. Белковая структура клеточного тела. 1946.
Коган Б. О., Ляткер П. Н., Цфасман Э. М. Фосфоролиз сахарозы культурами S. mesenteroides. Биология, **7**, 93, 1942.
Левитов М. М. Фосфорные соединения при брожении в живых бактериальных клетках. Биохимия, **4**, 657, 1939.
Левитов М. М. О щелочно-гидролизуемом фосфорном соединении в дрожжах. Биохимия, **7**, 255, 1942.
Липпман Ф. Типы метаболических реакций. Сб. «Пробл. совр. биохимии», стр. 47, 1949.
Работнова И. Л. Приоритет русского микробиолога А. Ф. Лебедева в открытии способности гетеротрофных бактерий усваивать CO_2. Микробиология, XIX, 275, 1950.
Северин В. А. Ресинтез аденозинтрифосфорной кислоты при окислении α-кето- и аминокислот в ядерных эритроцитах. Биохимия, **2**, 200, 1937.
Сейц И. Ф., Энгельгардт В. А. Дыхательное фосфорилирование и пастеровский эффект. Биохимия, **14**, 487, 1949.
Сорокин Ю. И. Изучение некоторых сторон обмена ацетоноэтиловых бактерий с применением ферментных ядов. Тр. ин-та микробиологии АН СССР, **2**, 89. 1952.
Таусон В. О. Основные положения растительной биоэнергетики. 1950.
Шапошников В. Н. Углекислота в обмене веществ гетеротрофных бактерий. Микробиология, XXI, 739, 1952.
Энгельгардт В. А. Ortho — and Pyrophosphat in aeroben und anaeroben Stoffwechsel der Blutzellen. Biochem. Z., **227**, 16, 1930.
Энгельгардт В. А. Химизм и ферменты брожения. Микробиология, VIII, 324, 1939.
Энгельгардт В. А., Любимова М. Н. К механо-химии мышцы. Биохимия, **7**, 205, 1942.
Энгельгардт В. А. Фосфорная кислота и функции клетки. Изв. АН СССР, сер. биол., № 2, 182, 1945.
Ajl S. J. Therminal respiratory patterns in microorganisms. Bact. Rev., **15**, 211, 1951.
Ajl S. J., Werkman C. H. Enzymatic fixation of carbon dioxide in α-ketoglutaric acid. Proc. Nat. Acad. Sc. (U. S. A.), **34**, 491, 1948.
Barker H. A., Stadtman E. R. Two new reaction producing acetyl phosphate. J. Biol. Chem., **174**, 1039. 1948.
Bolton E. T. Potassum compounds associated with carbohydrate metabolism of E. coli. Fed. Proc., **9**, 153, 1950.
Campbell J., Norris F. The intermediate metabolism of of Pseudemonas aeroginosa. IV. The absence of an Embden-Meyerhof cycleas evidenced by phosphorus distribution. Con. J. Res. «C», **28**, 203, 1950.
Chou T. C., Novelli G. D., Stadtman E. R., Lippman F. Fractionation of loenzyme A acetyl—transfer system. Feder. Proc. **9**, 160f 1950.

Clifton C. E., Piccet M. J. The effect of specific poisors on the utilisation of glucose by microorganisms. J. Cell. and Comp. Physiol., 22, 147, 1943.
Doudoroff M. Studies of the phosphorolysis of glucose. J. Biol. Chem., 151, 351, 1943.
Doudoroff M., Barker H. A., Hassid W. Z. Enzymatic synthesis of a new reducing and new non—reducing disacharides. J. Biol. Chem., 168, 725, 1947.
Elliott N. H. Adenosinetriphosphate in glutamine synthesis. Nature, 161, 108, 1948.
Elliott N. H., Gale E. F. Glutamine synthesizing system of Staphylococcus aureus. Nature, 161, 128, 1948.
Gaffron H. Reduction of carbon dioxide coupled with oxyhydrogen reaction in algae. J. Gen. Physiol., **26**, 241, 1942.
Hehre E. J., Carlson A. S., Neill J. M. Production of starchlike material from glucose-1-phosphate by Bacilli diphteria. Science, 106, 523, 1947.
Hersey D. F., Ajl S. J. Adenosinetriphosphate formation in the oxidation of succinic acid by bacteria. J. Biol. Chem., **191**, 113, 1951.
Hersey D. F., Ajl S. J. Phosphorylation due to the oxidation of succinic acid by cell free extracts of. E. coli. Gen. Physiol., 34, 295, 1951.
Hotchkiss R. D. Gramicidine, thyrocidine and thyrotricin. Adv. in Enzym., **4**, 153, 1944.
Hunter F. E. Anaerobic phosphorylation due to a coupled oxidation—reduction between α-ketoglutaric acid and oxaloacetic acid. J. Biol. Chem., **177**, 361, 1949.
Ingelman B. Metaphosphate and its enzymatic breakdown. «Enzymes» ed. by Samner, **1**, 511, 1951.
Kaplan N. O. Thermodynamics and mechanism of the phosphate bond. «Enzymes» ed. by Samner, **2**, 55, 1951.
Kaplan N. O. a. Lippman F. The acetyl precursor of pyrivale synthesis in E coli. J. Biol. Chem., **176**, 459, 1948.
Koepsell H. J., Jonson M. J. Dissimilation of pyrivic acid by cell free preparations of Cl. butylicum. J. Biol. Chem.. **145**, 379, 1942.
Koepsell H. J., Jonson M. J., Meek J. S. Role of phosphate in pyrivic acid dissimilation by cell free extracts of Cl. butylicum. J. Biol. Chem., **154**, 535, 1944.
Kornberg A. Reversible enzymatic synthesis of diphosphopyridine nucleotide and inorganic pyrophosphate. J. Biol. Chem., **182**, 779, 1950,
Krokes S., Stern J. R., Günsalus J. C., Ochoa S. Enzymatic synthesis of citrate from pyruvate and oxaloacetate. Nature, **166**, 439, 1950.
Lehninger A. L., Smith S. W. Efficiency of phosphorylation coupled to the electrone transport between diphosphopyridinenucleotide and oxygen. J. Biol. Chem., **181**, 415, 1949.
Le Page G. A. The biochemistry of autotrophic bacteria. The metabolism of Thiobacillus thioxidans in tne absence of oxidizible sulfur. Arch. Bioch., **1**, 255, 1942.
Le Page G. A., Umbreit W. W. The occurance of adenosine-3-triphosphate in autotrophic bacteria. J. Biol. Chem., **148**, 255, 1943.
Le Rage G. A., Umbreit W. W. Phosphorylated carbohydrate esters in autotrophic bacteria. Biol. Chem., **147**, 263, 1943.
Lippman F. Coupling between pyrivic acid dehydrogenation and adenylic acid phosphorylation. Nature, **143**, 281, 1939.
Lippman F. Metabolic generation and utilisation of phosphate bond energy. Adv. in Enzymol., **1**, 99, 1941.
Lippman F. Enzymatic synthesis of acetilphosphate. J. Biol. Chem., **155**, 55, 1944.
Lippman F. Acetylphosphate. Adv. in Enzymol., **6**, 231, 1946.
Lippman F. Symp. on chemical transformation in photosynthesis. Feder. Proc., **9**, 549, 1950.
Lippman F., Barker H. A. The role of phosphate in the intermedial metabolism of Propionbacterium pentosaceum. J. Biol. Chem., **179**, 247, 1949.
Lippman F., Kaplan N. O., Novelli C. D., Tuttle L. C. Isolation of coenzyme A. J. Biol. Chem., **186**, 235, 1950.
Lippman F., Tuttle L. C. Acetylphosphate. Chemistry determination and synthesis. J. Biol. Chem., **153**, 571, 1944.
Lippman F., Tuttle L. C. A specific micromethod for the determination of acetylphosphates. J. Biol. Chem., **159**, 21, 1945.
Lippman F., Tuttle L. C. Keto acid formation through the reversal of the phosphoroclastic reaction. J. Biol. Chem., **154**, 725, 1944 a.
Lippman F., Tuttle L. C. On the condensation of the acetylphosphate with formate or carbon dioxide in bacterial extracts. J. Biol. Chem., **158**, 505, 1945a.
Loomis W. F., Lippman F. Inhibition of phosphorylation in kidney homogenate. J. Biol. Chem., **179**, 807, 1948.
Lunsgaard E. Über die Energetic der anaeroben Muscelcontraction. Bioch. *Z.*, **233**, 322, 1931.
Mann T. Studies on the metabolism of mould fungi. Bioch. Journ., **38**, 339, 1944.
Michaelis L. Theory of oxidation—reduction. «Enzymes». Ed. by Sammer, 2, 1, 1951.
Nisman B. La dégradation de pyruvate du Na par des extraits enzymatics de Cl.

sporogenes et Cl. saccharobutyricum: une réaction phosphoroclastique. C. R. Ac. Sc., **231**, 248, 1950.
Ochoa S. Biological mechanisms of carboxylation and decarboxylation. Physiol. Rev., **31**, 56, 1951.
O'Kane D. J., Umbreit W. W. Transformations of phosphorus during glucose fermentation by living cells of Streptococcus faecalis. J. Biol. Chem., **142**, 25, 1942.
Park G. T., Jonson M. J. Accumulation of labile phosphate in Staphylococcus aureus grown in the presence of Penicillin. J. Biol. Chem., **179**, 505, 1949.
Rosenfeld B., Simson E. The mechanism of the butanolacetone fermentation. I. The role of pyruvate as an intermediate. II. Phosphoenolpyruvate as an intermediate. J. Biol. Chem., **186**, 393, 1950.
Stadtman A. R., Barker H. A. Fatty acid synthesis by Cl. kluyveri. I. Preparation of cell free extracts that catalyse the conversation of ethanol and acetate into butyrate and caproate. J. Biol. Chem., **180**, 1085, 1949. II. The aerobic oxidation of ethanol and butyrate with the formation of acetylphosphate. J. Biol. Chem., **180**, 1095, 1949. III. The activation of the molecular hydrogen and the conversation of acetylphosphate and acetate into butyrate. J. Biol. Chem., **180**, 1117, 1949. IV. The phosphoroclastic decomposition of acetoacetate to acetylphosphate and acetate. J. Biol. Chem. **180**, 1169, 1949. V. A. condensation of postulated 4—carbon intermediate in butyrate synthesis. J. Biol. Chem., **181**, 221, 1949. VI. Reactions of acylphosphates. J. Biol. Chem., **184**, 269, 1950.
Stadtman F. R., Katz J., Barker H. A. Cyanide induced ecetylation of aminocids by enzymes of Cl. kluyverii. J. Biol. Chem., **195**, 779, 1952.
Stern J. R., Ochoa S., Lynen F. Mechanism of enzymatic synthesis of citric acid. Feder. Proc., **11**, 293, 1952.
Stone R. W., Werkman C. H. The occurence of phosphoglyceric acid in the bacterial dissimilation of glucose. Bioch. J., **31**, 1516, 1937.
Strecker H. J., Wood H. G., Krampitz L. O. Fixation of formic acid in pyruvate by a reaction not utilising acetylphosphate. J. Biol. Chem., **182**, 525, 1950.
Strecker A. W., Kornberg A. Reversible enzymatic synthesis of flavinandenine-dinucleotide. J. Biol. Chem., **182**, 795, 1950.
Utter M. F., Lippman F., Werkman C. H. Reversibility of phosphoroclastic split of pyruvate. J. Biol. Chem., **158**, 521, 1945.
Utter M. F., Wood H. G. The fixation of carbon dioxide in oxaloacetate by pigeon liver. J. Biol., **164**, 455, 1946.
Utter M. F., Werkman C. H. Occurence of aldolase equilibrium in bacterial metabolism. J. Bact., **41**, 21, 1941.
Vishniac W., Ochoa S. Phosphorylation, coupled to photochemical reduction of pyridine nucleotide by chloroplast preparation. J. Biol. Chem., **198**, 501; 1952.
Vogler K. G. The nature of chemosynthetic reaction. J. Gen. Physiol., **26**, 103, 1942.
Vogler K. G., Le Page G. A., Umbreit W. W. The respiration of Thiobacillus thiooxidans on sulfur. J. Gen. Physiol., **26**, 103, 1942.
Vogler K. G., Umbreit W. W. Studies on the metabolism of autotrophic bacteria. III. The nature of energy storage material active in the chemosynthetic processes. J. Gen. Physiol., **26**, 157, 1942.
Warburton R. H., Eagles B. A., Campbell J. J. R. The intermedial metabolism of Pseudomonas aeroginosa. V. The identification of pyruvate as an intermediate of glucose oxidation. Can. J. Bot., **29**, 143, 1951.
Werkman C. H., Stone R. W. Dissimilation of phosphate esters by bacteria. Enzymologia, **4**, 24, 1937.
Werkman C. H., Zoellinger E. A., Gilmsn H., Reynolds J. Phosphoglyceric acid in the metabolism of glucose by Cytrobacter freundii. J. Bact., **31**, 5, 1936.
Wiggert W. P., Werkman C. H. Phosphorylation by the living bacterial cell. Bioch. J., **32**, 101, 1938.
Wiken T. W., Watt D., White A. G. C., Werkman C. H. Revercibility of dismutation of pyruvate. Arch. Bioch., **14**, **478**, 1947.
Wilson J., Krampitz L. O., Werhman C. H. Reversibility of a phosphoroclastic reaction, Bioch. J., **42**, 598, 1948.

МАТЕРИАЛЫ К ИСТОРИИ РАЗВИТИЯ ТЕХНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ В СССР

МИКРОБИОЛОГИЯ ВИНОДЕЛИЯ

И. Л. Работнова

В дореволюционной России виноделие осуществлялось в мелких хозяйствах кустарным способом. Лишь небольшое количество крупных помещичьих и удельных хозяйств было оборудовано современной иностранной техникой. Работу вели главным образом иностранные специалисты. Однако отдельные исследования в области микробиологии виноделия начались в России очень давно, раньше, чем в любой другой области технической микробиологии.

В энохимической лаборатории Никитского ботанического сада с 1891 г. были начаты работы по выделению и применению в виноделии чистых культур дрожжей.

В 1905 г. В. Е. Таировым была организована Научно-опытная винодельческая станция в Одессе, которая вела пропаганду применения чистых культур дрожжей и рассылала чистые культуры коллекционных дрожжей, полученные из Германии, Австрии и Дании. Затем рассылкой культур стали заниматься еще несколько винодельческих станций. После революции это делали лаборатории в Баку, Ташкенте, Самарканде.

В 1936 г. партией и правительством была поставлена задача — создать мощную винодельческую промышленность на основе новейших достижений науки и техники. За период с 1936 по 1941 г. винодельческая промышленность из кустарной превратилась в крупную. Разработана и внедрена в производство технология приготовления советского шампанского, созданы высококачественные вина как старых, уже известных марок, так и новых.

Одновременно значительное развитие получила советская микробиология виноделия. Научная работа централизована во Всесоюзном институте виноделия и виноградарства с филиалами в ряде винодельческих районов. Кроме того, работы по микробиологии и биохимии виноделия ведутся в Академии наук СССР, в Институте с.-х. микробиологии ВАСХНИЛ, на винодельческих станциях и т. д. Подведением итогов всей работы по виноделию в СССР является двухтомный труд Герасимова «Технология виноделия» (т. 1, 1944; т. II, 1948).

Микробиологические исследования в виноделии начинаются с изучения распространения дрожжей в природе. Существует теория, впервые выдвинутая Ганзеном, гласящая, что дрожжи совершают в природе круговорот. Перезимовывая в почве, они в летнее время разносятся по воздуху ветром и оседают на плоды. Зрелые ягоды — основное местообитание дрожжей. Однако эта теория вызывает некоторые сомнения. Надсон в 1927 г. обратил внимание микробиологов на то, что в почве виноградников дрожжи обнаруживаются чрезвычайно редко. В воздухе виноградников их также почти не удается обнаружить. Однако живые дрожжи встречаются в теле плодовой мушки. Возможно, что у дрожжей и мушки существует своеобразный симбиоз. К подобному же заключению приходит Саенко. Она изучала население виноградной лозы в Крыму (1932, 1945, 1946); ею найдено, что на поверхности винограда чаще всего встречается

Sacch. apiculatus, в меньшем количестве — Sacch. ellipsoideus. На поверхность винограда дрожжи, по мнению Саенко, заносят насекомые (Саенко и Джулабишвили, 1938). Особенно большое значение имеет Drosophila, которая несет дрожжи не только на поверхности тела, но и в кишечнике или в полости тела, где дрожжи остаются живыми. Откладывая яички на поверхности ягод или вместе с экскрементами, насекомые оставляют на винограде большое количество дрожжей. Источником дрожжей, по мнению Саенко, являются винные подвалы, овощехранилища и тому подобные места, где гнездятся мушки и имеются дрожжи. В почве, особенно в жаркое время года, дрожжи не обнаруживаются.

Круговорот дрожжей в природе изучался Тюниной (1931), Рябченко (1951) и Шумаковым (1948). В противоположность Саенко, они пришли к заключению, что основное местообитание дрожжей — почва, так как им удавалось выделять их из почв виноградников. Из почвы дрожжи попадают на поверхность винограда, где их обычно и обнаруживают. Легко выделить дрожжи со зрелого и особенно с поврежденного винограда. Шумакову удалось обнаружить дрожжи и на зеленом винограде, что с трудом удавалось другим исследователям. Он проращивал смыв с ягод в атмосфере CO_2. При этом развитие плесеней угнетено и дрожжи легче обнаруживаются. Этим же методом он обнаруживал дрожжи и в почве. Таким образом пока нет единства мнений о путях попадания дрожжей на виноград.

До сих пор в виноделии очень часто брожение идет на тех дрожжах, которые находятся на винограде (самоброжение). Их количество иногда бывает настолько велико, что сусло, отжатое из винограда, немедленно забраживает.

При брожении происходит смена микрофлоры (Саенко, 1929). В первые моменты брожения преобладает S. apiculatus. При достижении 4% спирта развитие S. apiculatus затухает и верх берет S. ellipsoideus, который и ведет главное брожение. Это наблюдала Саенко в Крыму (1929) и Н. И. Дрбоглав в Узбекистане (1937). Имеются и иные наблюдения: Квасников (1952) указывает, что в Средней Азии S. apiculatus встречается редко. Добавление чистой культуры дрожжей не намного ускоряет брожение, и нет никакой гарантии, что перевес возьмут именно внесенные дрожжи, а не находящиеся уже в сусле. Поэтому применение чистых культур в виноделии долгое время не прививалось, хотя в лабораториях давно имеются чистые культуры S. ellipsoideus, выделенные в известных районах виноделия у нас и за границей (Германия и Франция). Однако часто бывают случаи недоброда, которые (Саенко) можно объяснить недостаточным количеством дрожжей на винограде. В этом случае внесение чистой культуры улучшает брожение. Только с широким применением сернистого ангидрида в виноделии чистые культуры дрожжей стали входить в обиход виноделов. Применение сернистого ангидрида введено впервые Герасимовым в 1925 г. в Крыму. Сернистый ангидрид, введенный в сусло в сжиженном виде, в виде К-соли или непосредственно путем окуривания посуды приостанавливает развитие диких дрожжей. Дрожжи в стадии почкования особенно чувствительны к SO_2. Затем SO_2 довольно быстро исчезает из сусла вследствие улетучивания, окисления или образования соединений с веществами сусла. Если теперь ввести размноженную чистую культуру дрожжей, то она сразу получает перевес над дикими дрожжами и ведет брожение. При применении чистых культур нет никаких отклонений от нормального хода брожения. Повышается содержание спирта на 0,5—1%, происходит более быстрое осветление. Вкус вина улучшается, предотвращаются болезни вина.

Еще в 900-х годах Ховренко пришел к заключению, что известные иностранные расы не дают особых преимуществ в наших районах виноделия. Для каждого района лучший результат дают местные расы, выделенные в годы особенно удачного виноделия из хорошо отбродивших чанов. Се-

лекции культур — это одна из первостепенных задач микробиологии виноделия.

Селекция культур для виноделия ведется издавна. Особенно много работали в этом направлении в Крыму в Институте Магарач, который можно считать колыбелью русской микробиологии виноделия (см. работы Бачинской и др., 1927, Бургвиц и др., 1929, Саенко, 1952 и др.). С 1923 г. Герасимовым, Саенко и другими выделено, изучено и внедрено в практическое виноделие много рас, которые уже в течение многих лет применяются в Крыму и в других районах.

Эта работа широко проводится теперь во всех районах виноделия СССР. Н. И. Дрбоглав (1937) были выделены местные расы в Узбекистане, более устойчивые к высокой температуре, чем известные коллекционные расы. В том же направлении позже работали Квасников и Хроликова (1948). Бургвиц и Мгалобишвили (1933) выделили и ввели в обиход местные расы в Западной Грузии. Зильберман (1941) выделила культуры в Орджоникидзевском крае. Циганков (1949) выделял местные расы в Туркмении.

В результате работ многих исследователей основные районы виноделия имеют большой ассортимент местных рас. Эти расы, по мнению многих виноделов, лучше известных и хорошо зарекомендовавших себя заграничных рас.

Обычно выделение новых рас ведется из дрожжей, на которых брожение прошло хорошо по тем или иным показателям. Однако для рационализации этой работы желательно иметь какие-нибудь признаки, которые давали бы возможность с меньшей затратой труда отобрать нужные расы из массы дрожжей.

По мнению Одинцовой (1952), ведущим признаком для отбора ценных рас должна быть выносливость к значительной кислотности. Отличительной особенностью виноградного сока является низкий pH и высокое содержание сахара. Дрожжи должны быть приспособлены к этим условиям. По данным Одинцовой, кислотоустойчивость различных рас весьма различна. Ею разработан быстрый метод для отбора на кислотоустойчивость.

Имеющиеся в коллекции различные расы еще недостаточно всесторонне изучены. Между тем необходимо именно всестороннее знакомство с каждой расой для того, чтобы успешно подбирать нужную расу для каждого случая. Поэтому теперь вводится паспортизация культур. Эта работа начата с 1939 г. (Шумаков). В 1945 г. Саенко и Сахарова (1947) разработали форму паспортизации. В нее входят многие данные по физиологии, важные для производства.

Вопрос о хранении имеющихся рас — это большая проблема, стоящая перед микробиологией виноделия. Известно, что при хранении дрожжи могут меняться, могут утрачивать свои ценные свойства. Музеи чистых культур должны не только уметь поддерживать дрожжи так, чтобы они сохраняли свои свойства, но и направленно воспитывать их.

Направленное воспитание дрожжей имеет в микробиологии виноделия очень большое значение. Это видно хотя бы из следующего примера. При сульфитировании сусла к дрожжам предъявляются особые требования. Они должны быть устойчивы к сернистому ангидриду. Естественно, что такие дрожжи в природе можно не найти. Поэтому сейчас стоит задача по изысканию путей получения новых рас, с новыми свойствами, например с высокой устойчивостью к SO_2.

Каждый сорт вина требует от дрожжей своих особенностей. Необходимо научиться путем направленной изменчивости получать у дрожжей те или иные свойства. В этом направлении уже с успехом ведутся исследования (см. ниже о работах Саенко по хересу, 1952).

Шамис и Медведева (1949) приступили к разрешению вопроса о получении рас, дающих высокие выхода спирта. Они пришли к выводу, что

между спиртоустойчивостью и спиртообразовательной способностью отсутствует прямая зависимость. Спиртообразовательная способность зависит от исходной концентрации сахара. Она может быть усилена путем адаптации дрожжей к сбраживанию более высоких концентраций сахара.

Глубокого изучения заслуживает вопрос о применении комплексов культур. Несомненно, что в некоторых случаях комплексы различных рас могут дать большой эффект. Эта область еще мало затронута исследованием.

Микробиологический контроль производства еще не стал обязательным условием в виноделии. Методика контроля в литературе мало освещена. Имеется попытка Н. И. и Ю. А. Дрбоглав (1937) разработать практически этот вопрос. В результате четырехлетней практической работы они выработали показатели для микробиологической оценки чистоты воздуха, состояния молодого вина и т. д.

Большой интерес представляют работы микробиологов по изучению ряда специальных сортов вин.

Серьезные исследования посвящены хересу. Херес приготовляется в Испании и притом только в районе, носящем то же название. В процессе приготовления этого вина принимают участие особые хересные дрожжи. Они образуют толстую пленку на поверхности вина, выдерживаемого в бочках в течение многих лет, и придают ему особый вкус и аромат. Природа этих дрожжей изучалась русскими исследователями. Еще в дореволюционные годы Фролов-Багреев и Ховренко исследовали вывезенную из Испании пленку. Они нашли, что ее образуют не пленчатые дрожжи, как предполагали испанские виноделы, а активно бродящие дрожжи, относящиеся к роду Saccharomyces. Детальные исследования, проведенные Саенко и Фроловым-Багреевым (1945), установили, что пленка состоит из комплекса дрожжей, относящихся к Saccharomyces. Это активно бродящие, близкие к S. ellipsoideus дрожжи, способные по окончании брожения образовывать пленку. Другая часть принадлежит к роду Hansenula. Они не способны к брожению, но обладают этерифицирующей способностью.

Пленки типа хересных не приурочены только к одной местности в Испании. Они встречаются у нас в Узбекистане и Армении (Простосердов, 1944).

Диланян (1947) изучал местные расы в Октемберянском районе Армянской ССР и нашел дрожжи, обладающие хересующими свойствами. Советские ученые опровергли теорию об эндемичности хереса.

Хересные вина привлекли внимание биохимиков. При изучении биохимического состава хересных вин (Саенко, 1947, Сисакян и др., 1948) установлено, что они отличаются от обычных вин повышенным содержанием ацетальдегида и ацеталя, которые образуются в результате брожения. Особенно важное значение имеет отношение $\frac{\text{ацетальдегид}}{\text{ацеталь}}$. В хорошем хересе оно равняется 1 : 1.

Для получения хереса имеют значение не только дрожжи, но и сорт винограда. Лишь на благоприятном фоне хересные дрожжи осуществляют тот тип обмена веществ, который приводит к образованию хересного вкуса.

Работой Саенко (1948) показано, что под пленкой создаются сильно восстановительные условия (низкий Eh), но не это является причиной возникновения особого вкуса и аромата.

Изучение хересных дрожжей позволило рационально подойти к получению советского хереса. В Испании, где брожение идет спонтанно, нужна многолетняя выдержка под пленкой. Рациональное производство, поставленное с учетом всех имеющихся достижений в области изучения биологии хересных дрожжей (Саенко, 1943 и 1951), позволяет получить высоко-

качественный херес за полтора-два года (искусственный засев, подкормка аммонием и пр.).

Хересные дрожжи должны обладать значительной спиртоустойчивостью для того, чтобы они могли развиваться на крепких винах. Это необходимо для того, чтобы в вине не могли развиваться вредители. При 15% спирта в южных районах могут развиваться уксуснокислые бактерии. Обычно хересные дрожжи не растут на вине с содержанием спирта выше 15%. Саенко (1952) удалось получить спиртоустойчивые расы хересных дрожжей путем адаптации к повышенному содержанию спирта. Эти расы развиваются при 17% спирта. Новое свойство закрепляется, если дрожжи все время поддерживать при высокой концентрации спирта, но обязательно при оптимальных условиях pH и питания.

Другой тип вина, которому посвящены работы советских исследователей,— это шампанское.

В СССР достигнуты особенно большие успехи в производстве шампанского. Работами крупнейшего винодела Фролова-Багреева налажено массовое производство шампанского на специальных заводах шампанских вин. После окончания главного брожения к вину добавляется некоторое количество сахара — ликер. Вино герметически закупоривается в больших резервуарах, так называемых акратофорах, или в бутылках (старый способ). Наступает вторичное брожение, приводящее к насыщению вина углекислотой, обусловливающей «игристость» вина. Приготовление шампанского, особенно вторая стадия, предъявляет особые требования к культуре дрожжей. При вторичном брожении дрожжи работают в неблагоприятных условиях: при высокой концентрации спирта и высокой кислотности. Кроме того, дрожжи должны давать такие осадки, которые не взмучиваются и легко отделяются от вина. Для получения дрожжей, удовлетворяющих всем этим требованиям, ведется селекционная работа (Рябченко, 1944 и 1948, Орцев и др., 1951). Подбор новых рас для шампанского — это задача, стоящая в настоящее время перед микробиологией виноделия.

Биохимические процессы, происходящие при шампанизации, изучал Опарин с сотрудниками (1947). Выяснено, что вторичное брожение заканчивается через 30 дней, затем дрожжи отмирают. Их ферменты переходят в раствор, и в течение 100—350 дней идут ферментативные процессы.

Кочерга (1944), Дрбоглав (1940), Родопуло (1944) изучали окислительно-восстановительный потенциал по ходу производства шампанского. Выяснилось, что Eh является и условием и показателем созревания вина. Кочерга (1949) относит это вообще ко всем типам вина. Он нашел, что для созревания каждого типа вина необходим определенный окислительно-восстановительный потенциал, при котором процессы созревания или старения идут в оптимальных условиях. Для шампанского величина Eh колеблется в пределах +200—+350 мв, для столовых бутылочных вин +150—+280 мв и для дессертных +380—+500 мв.

При уточнении динамики Eh для каждого типа открываются перспективы для управления созреванием вин.

Интересные работы посвящены винам типа сотерн (Шато Икем). Это вино получается только в одной местности Франции и на берегу Рейна. Оно приготовляется из очень сахаристых сортов винограда, пораженного так называемой «благородной гнилью» Botrytis cinerea. В результате развития грибка виноград заизюмливается и сахаристость сусла достигает 50%. Кроме того, грибок придает вину специфический вкус. Однако такое вино удается получить 1 раз за 8—10 лет, так как для оптимального развития грибка редко бывают благоприятные климатические условия. При неблагоприятных условиях B. cinerea может стать вредителем винограда. У нас делались попытки получить подобные вина. Преображенский (1947) заражал грибком виноградные лозы, хранящиеся в особых помещениях. Удалось получить вино, напоминающее сотернское. Другая попытка получить вино этого типа была предпринята Поповой и Пуч-

ковой (1947), которые применили ферментативный препарат Botrytis cinerea. Однако практических результатов в этом направлении еще нет.

Значительные успехи достигнуты в области микробиологии виноделия в северных районах СССР. В основном эти работы ведутся во Всесоюзном институте с.-х. микробиологии в Ленинграде. Плодово-ягодное виноделие возникло у нас недавно. Сначала применялись известные расы виноградных дрожжей. В результате ряда исследований Кирьяловой и др. (1946, 1949) изучена дрожжевая микрофлора различных ягод. В свежих соках сначала преобладают S. apiculatus и Torulopsis. Их спиртообразующая способность невелика: они дают 1—4% спирта. Затем их вытесняют дрожжи типа S. ellipsoideus, которые на ягодах встречаются лишь в небольшом количестве. Среди местных штаммов S. ellipsoideus удалось подобрать такие, которые за две недели дают до 15% спирта. Эти дрожжи находят широкое применение в плодово-ягодном виноделии в ряде районов. Изучались также (Кирьялова, 1951) дрожжи, встречающиеся на винограде, выращиваемом в северных районах — в Саратовской области. Найдены те же формы, которые обычно встречаются на винограде на юге. Кирьялова считает, что брожение лучше вести не на монокультуре, а на комплексе рас. S. apiculatus, по ее мнению, это придает вину аромат.

Кирьялова селекционировала и изучила дрожжи для приготовления слабоалкогольного напитка — сидра, который готовится из яблочного сока. В результате обширной работы (с 476 культурами) отобраны такие расы, которые дают хороший результат. Это дрожжи типа Torulopsis и S. apiculatus. В производстве их рекомендуется применять вместе с местными расами. Повидимому, именно эти дрожжи придают напиткам фруктовый аромат. Анализ продуктов их жизнедеятельности (Берг, 1942) показал, что наряду с небольшими количествами спирта и летучих кислот эти организмы образуют до 0,5 г/л летучих эфиров.

Щербаков и Попова (1934) выделили из черничного вина новый вид делящихся дрожжей, названный Schizos. mosquensis. Это редкий случай обнаружения делящихся дрожжей в северных широтах. Дрожжи оказались пригодными для получения сладких виноградных вин. Они придают вину характерный аромат, близкий к хересу. При совместной культуре с S. ellipsoideus могут быть использованы для получения ягодных вин (черника).

Специальный раздел в микробиологии виноделия представляет изучение болезней вина. Вино может подвергаться многочисленным заболеваниям, вызываемым самыми разнообразными микроорганизмами.

Пленчатые дрожжи могут развиваться на вине и образовать пленку на его поверхности, если в вине спирта менее 12% и оно соприкасается с воздухом. Они сжигают спирт и портят вкус. В этих же условиях могут развиваться уксуснокислые бактерии. Они образуют уксусную кислоту, которая придает вину жгучий привкус. Интересно, что в вине встречаются уксусные бактерии, живущие в толще вина (Могилянский, 1944).

Кроме аэробных микроорганизмов, целый ряд болезней вызывают анаэробы. Молочнокислые бактерии могут сбраживать сахар с образованием молочной и уксусной кислоты и сильно портить вкус. Пропионовые бактерии могут сбраживать имеющуюся в вине винную кислоту и глицерин, при этом изменяется цвет вина. В ряде случаев порча вина происходит в результате действия комплекса различных микроорганизмов.

Болезни вина еще очень мало изучены. Этому вопросу посвящено несколько серьезных исследований.

Работами Саенко (1939, 1945) и Нечаева (1939) показано, что столовые вина могут помутнеть вследствие развития пленчатых дрожжей Pichia, Willia, Mycoderma. Эти организмы могут развиваться не только на поверхности, но и в толще вина. 0,01—0,02% сахара уже достаточно, чтобы образовался значительный осадок. Кроме сахара, эти дрожжи используют яблочную и винную кислоты, имеющиеся в вине.

Крепкие и сладкие вина мутнеют главным образом вследствие выпадения белковых осадков (Саенко, 1944; Чаленко и Кульжинская, 1941). Однако по данным Квасникова с сотрудниками (1947, 1949, 1951, 1952), крепкие и дессертные вина могут подвергаться бактериальным заболеваниям в районе с жарким климатом (Средняя Азия). Заболевания вызываются бактериями из группы молочнокислых. Сначала образуется муть, затем кислота и неприятный вкус. Квасников обратил внимание на то, что все молочнокислые бактерии — не только возбудители болезней вин, но и выделенные из кислой капусты, силоса, солода т. д, исключительно спиртоустойчивы. Они выносят 16—18% спирта. Интересно, что на средах с высоким содержанием спирта они долго сохраняют жизнеспособность, очевидно вследствие более медленного развития. Квасниковым предложен простой прием для выделения молочнокислых бактерий. Среда с 15% спирта не допускает развития посторонних микроорганизмов, но вполне пригодна для молочнокислых. Несмотря на то, что все молочнокислые бактерии, как гомо-, так и гетероферментативные, очень устойчивы к спирту, в вине могут развиваться лишь немногие специфические виды. Ограничивающим фактором в вине является не спирт, а вся совокупность условий. Большинство вредителей вина принадлежит к Lactobact. buchneri. Молочнокислое скисание крепких вин не встречается в странах с умеренным климатом. Оно впервые описано Квасниковым в Средней Азии.

Одной из наименее изученных болезней являлась так называемая «мышиная болезнь». Признаки ее следующие: сначала появляется муаровая муть, затем образуется осадок и запах мышиного помета. Изучению этой болезни посвящены работы Дрбоглав (1940), Берг (1939), Немцовой (1949). По данным Чистович (1939), заболевание вызывает комплекс микроорганизмов. В этот комплекс входят молочнокислые бактерии и новая разновидность дрожжеподобного организма Monilia vini. В качестве сопутствующей микрофлоры могут быть уксусные бактерии и пленчатые дрожжи. Заболевание сопровождается повышением содержания летучих кислот, молочной кислоты и маннита (Берг, 1939).

Кроме микроорганизмов, мышиный тон в вине может быть вызван и чисто химическим воздействием. Немцова (1949) показала, что добавление H_2O_2 в количестве 25—100 мг О на л вызывает появление мышиного тона. Так же действует добавление пероксидаз (Манская) и повышение Eh до 400—500 мв (Кочерга). Очевидно, в окисленных условиях образуется какое-то вещество, обладающее вкусом и запахом мышиного помета.

Шампанское иногда мутнеет при стоянии. Чаще всего это вызывается развитием дрожжей — культурных или пленчатых Pichia и Willia. Для предотвращения помутнения содержание спирта должно быть не менее 12,1% (Дрбоглав, 1940).

Своеобразным заболеванием вина является кислотопонижение. Заключается оно в уменьшении количества винной кислоты. Известно, что в вине могут развиться специфические бактерии, разлагающие винную кислоту с образованием молочной и CO_2. Чаленко (1941) удалось убедительно доказать, что, кроме бактериального кислотопонижения, в плодовых винах можно наблюдать и дрожжевое. В период бурного брожения наряду с Sacch. cerevisiae иногда развиваются делящиеся дрожжи, названные автором Sacch. acidodevoratus. Эти дрожжи способны к спиртовому брожению, но наряду с этим они разрушают винную кислоту, делая вино бескислотным и тем ухудшая его качества.

Болезни вин трудно поддаются лечению. Их следует предотвращать путем правильного ведения технологического процесса.

Применение сернистого ангидрида имеет очень большое значение в предотвращении микробных заболеваний.

Саенко (1945) показано, что хересная пленка может излечивать неко-

торые болезни. Из вина, пораженного молочнокислым скисанием, можно получить хороший херес, так как хересные дрожжи могут потреблять летучие кислоты, молочную кислоту и маннит, образующиеся при молочнокислом брожении.

В качестве меры борьбы с инфекцией может служить селекция специальных рас дрожжей. Квасников (1952) указывает, что в условиях Средней Азии необходимо подбирать такие расы, которые хорошо выбраживают сусло. Это необходимо для получения стойких сухих вин, так как небольшое количество остаточного сахара уже создает опасность заболевания вина. Дрожжи должны давать невзмучиваемые осадки, чтобы их легко было отделить от вина. Кроме того, они должны быть стойкими к автолизу, чтобы вино не обогащалось азотистыми веществами, благоприятствующими развитию молочнокислых бактерий.

Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова.
Биолого-почвенный
научно-исследовательский
институт

Получено 9. IV. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

Бачинская А. А., Бургвиц Г. К., Конокотина А. Г. Исследование виноградных дрожжей южного берега Крыма. Вестник виноделия Украины, № 1, 1927.
Берг В. А. Биохимическое изучение мышиной болезни вина. Винодел. и виноград. СССР, № 3, 7, 1939.
Берг В. А. Биохимизм представителей Torulopsis и S. apiculatus. Микробиология, XI, вып. 5—6, 212, 1942.
Бургвиц Г. К., Герасимов М. А., Саенко Н. Ф. Испытание чистых культур виноградных дрожжей в условиях практического виноделия южного берега Крыма. Записки Никитского сада, XII, вып. 3, 153, 1929.
Бургвиц Г. К. и Мгалобишвили Г. М. Изучение и применение местных виноградных дрожжей в Западной Грузии. Тр. Ин-та микробиол. Всес. Акад. наук им. Ленина, V, 1933.
Герасимов М. А. Технология виноделия, 1, 1944; II, 1948.
Дахнова Е. Н., Преображенский А. А. Крымский херес. Винод. и виногр. СССР, № 12, 15, 1947.
Диланян А. М. Изучение различных рас S. ellipsoideus armenianus Октемберянского района Армянской ССР. Серия научн. работ Ин-та винодел. и виногр., № 17, Ереван, 1947.
Дрбоглав Н. И. Чистые культуры дрожжей для сбраживания сухих вин. Соц. наука и техника, № 7, 72, 1937, Ташкент.
Дрбоглав Ю. А. Изменение растворенного кислорода и окислительно-восстановительного потенциала при шампанизации вин по системе Шоссенье. Винодел. и виногр. СССР, № 2, 3, 1940.
Дрбоглав Ю. А. Физико-химические условия появления мышиного тона в шампанском. Винодел. и виноград. СССР, № 3, 3, 1940.
Дрбоглав Ю. А. Микроорганизмы, вызывающие помутнение шампанских вин. Винодел. и виногр. СССР, № 4, 5, 1940.
Дрбоглав Н. И., Дрбоглав Ю. А. Микробиологический контроль в виноделии. Ташкент, Изд. Комит. науки Уз. ССР, 1937.
Зильберман С. Я. Выделение и стандартизация чистых культур дрожжей при производстве столовых вин в Орджоникидзевском крае. Тр. Центр. н.-и. энохимич. лаб., вып. 1, 77, 1941.
Зубкова Р. Д. Влияние витамина В на бродильном свойстве винных дрожжей. Изв. АН Каз. ССР, вып. 1, 1949.
Зубкова Р. Д. Витаминная характеристика пяти штаммов винных дрожжей. Изв. АН Каз. ССР, вып. 1, 1949.
Квасников Е. И. Бактериальные болезни вин с высоким содержанием спирта. Винодел. и виногр. СССР, № 2, 7, 1947.
Квасников Е. И. Борьба с заболеванием вин при резервуарной шампанизации. Винодел. и виногр., № 2, 17, 1951.
Квасников Е. И. Спиртоустойчивость молочнокислых бактерий. Микробиология, XXI, 160, 1952.
Квасников Е. И. Основные особенности микробиологических процессов виноделия Средней Азии и пути управления ими. Сб. Вопросы винодел. и виногр., 82, 1952.
Квасников Е. И. и Аряшкина П. П. Влияние ДДТ на процесс размножения дрожжей и брожение. Винодел. и виногр. СССР, № 6, 23, 1947.

Квасников Е. И. и Аряшкина П. П. Новое в изучении болезней вин. Винодел. и виногр. СССР, № 10, 26, 1949.
Квасников Е. И. и Ковалева Л. В. Длительность выживания молочнокислых бактерий в различных субстратах. Винодел. и виногр. СССР, № 5, 24, 1951.
Квасников Е. И. и Хроликова В. Т. Новые расы дрожжей для виноделия Узбекистана. ДАН Уз. ССР, № 7, 27, 1948.
Кирьялова Е. Н. Селекция и изучение дрожжей для получения сидра. Микробиология, XV, 385, 1946.
Кирьялова Е. Н Задачи микробиологии в плодово-ягодном виноделии. Винодел. и виногр. СССР, № 2, 28, 1949.
Кирьялова Е. Н. Дрожжи северного винограда. Тр. Всес. н.-и. ин-та с. х. микробиол., XI, 130, 1951.
Кирьялова Е. Н. и Пумпянская А. В. Применение плодово-ягодных дрожжей в виноделии. Тр. Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиол., XI, 125, 1951.
Кирьялова Е. Н. и Шкляр М. З. Дрожжевая микрофлора плодово-ягодных соков. Тр. Всес. н.-и. ин-та с. х. микробиол., XI, 106, 1951.
Кирьялова Е. Н. и Шкляр М. З. Смешанные культуры дрожжей в плодово-ягодном виноделии. Тр. Всес. н.-и. ин-та с. х. микробиол., XI, 116, 1951.
Кочерга П. В. К теории старения вина. Винодел. и виноград. СССР, № 9, 3, 1944.
Кочерга П. В. К теории старения вина. Тр. Краснод. ин-та пищ. пром-сти, вып. 6, 27, 1949.
Могилянский Н. К. Новая уксусная бактерия вина. Винодел. и виногр. СССР, № 10—11, 13, 1944.
Могилянский Н. К. Особенности заболевания вин Таджикистана. Винодел. и виногр. СССР, № 9, 33, 1950.
Мосиашвили Г. И. Значение R- и S-форм дрожжей в виноделии. Винодел. и виногр., № 9, 30, 1950.
Мызникова С. А. и Журавлева В. П. Местные расы дрожжей. Винодел. и виногр. СССР, № 5, 27, 1951.
Надсон Г. А. Как попадают дрожжи на ягоды винограда? Вестн. винодел. Украины, № 6, 11, сер. 323, Одесса, 1927.
Немцова З. Н. О мышином тоне вин. Тр. Краснод. ин-та пищ. пром-сти, вып. 6, 135, 1949.
Нечаев Л. Н. Предупреждение дрожжевых помутнений белых столовых вин. Винодел. и виногр. СССР, № 4, 3, 1939.
Одинцова Е. Н. Современные задачи микробиологии в виноделии и виноградарстве. Винодел. и виногр. СССР, № 6, 41, 1950.
Одинцова Е. Н. Ведущий признак отбора дрожжей для виноделия и их распространение в природе. Сб. Вопросы микробиол. в винодел. и виногр., 64, 1952.
Опарин А. И., Курсанов А. Л., Саенко Н. Ф. и Безингер Э. Н. Биохимические процессы, совершающиеся в шампанском в период послетиражной выдержки. Биохимия виноделия, Сб. 1, 1947.
Орцев А., Чистович Г. и Филиппов Б. Селекционированные дрожжи для резервуарной шампанизации. Винодел. и виногр. СССР, № 1, 25, 1951.
Охременко Н. С. Задачи микробиологии в виноделии и виноградарстве. Сб. Вопросы микробиол. в винодел. и виногр., 10, 1952.
Попова Г. М. К вопросу о морфолого-физиологических особенностях Schizosaccharomyces mosquensis. Биохимия виноделия, сб. 1, 1947.
Попова Е. М. и Пучкова М. Г. Значение ферментного комплекса препарата Botrytis cinerea для виноградных сусел. Биохимия виноделия, сб. 1, 1947.
Преображенский А. А. Методы искусственного заражения винограда грибком Botrytis cinerea для производства вина типа Шато Икем. Биохимия виноделия, Сб. 1, 1947.
Преображенский А. А. Сотернские вина. Винодел. и виногр. СССР, № 4, 1947.
Простосердов Н. Н. О технологии хереса. Винодел. и виногр. СССР, № 4—5, 9, 1944
Родопуло А. К. Изменение окислительно-восстановительного потенциала и количества растворенного кислорода в виноматериалах при шампанизации. Винодел. и виногр. СССР, № 9, 3, 1944.
Родопуло А. К. Жизнеспособность дрожжевых клеток после выдержки шампанского на дрожжах. Винодел. и виногр. СССР, № 1, 27, 1949.
Рябченко И. М. Расы дрожжей для шампанского производства. Винодел. и виногр. СССР, № 1—2, 11, 1944.
Рябченко И. М. Дрожжи для шампанского производства. Тр. Краснод. ин-та пищ. пром-сти, вып. 3, 1948.
Рябченко И. М. К изучению дрожжей виноградников Абрау-Дюрсо. Винодел. и виногр. СССР, № 1, 16, 1951.
Саенко Н. Ф. Изменение микрофлоры виноградного сусла в период брожения. Записки Никитского сада, XII, вып. 3, 169, 1929.
Саенко Н. Ф. К вопросу о круговороте дрожжей в природе, 1932.
Саенко Н. Ф. О советском хересе. Винодел. и виногр. СССР, № 1, 11, 1939.

Саенко Н. Ф. Дрожжевые помутнения столовых вин. Винодел. и виногр. СССР, № 5, 3, 1939.
Саенко Н. Ф. Ускоренный метод приготовления вин типа херес. Винодел. и виногр. СССР, № 1—2, 13, 1943.
Саенко Н. Ф. Исправление больных и дефектных вин при помощи хересной пленки. Винодел. и виногр. СССР, вып. 4, 4, 1945.
Саенко Н. Ф. Расообразование у дрожжей S. ellipsoideus и S. apiculatus в условиях симбиоза. Микробиология, XIV, вып. 5, 1945.
Саенко Н. Ф. Симбиоз виноградных дрожжей в природе. Микробиология, XV, вып. 2, 1946.
Саенко Н. Ф. Дрожжи хереса. Биохимия виноделия, сб. 1, 1947.
Саенко Н. Ф. Изменение окислительно-восстановительного потенциала и состава вина при выдержке его под хересной пленкой. Биохимия виноделия, сб. 2, 86, 1948.
Саенко Н. Ф. Ускорение роста хересной пленки на вине. Винодел. и виногр., № 1, 12, 1951.
Саенко Н. Ф. О направленной изменчивости как методе получения спиртоустойчивых хересных дрожжей. Сб. Вопросы микробиол. в винодел. и виногр., 33, 1952.
Саенко Н. Ф. Работа Института Магарач в области микробиологии со дня его основания. Сб. Вопросы микробиол. в винодел. и виногр., 16, 1952.
Саенко Н. Ф. и Джулабишвили Р. Изучение источников распространения дрожжей на винограднике. 1938.
Саенко Н. Ф. и Мальцева М. А. Причины помутнения крепких и сладких вин. Винодел. и виногр., № 10—11, 11, 1944.
Саенко Н. Ф. и Милакова С. Е. Дрожжевые помутнения столовых вин. Винод. и виногр. СССР, № 7—8, 16, 1944.
Саенко Н. Ф. и Милакова С. Е. Микробиологический контроль разводок чистых культур дрожжей. Винодел. и виногр. СССР, № 1—2, 1945.
Саенко Н. Ф. и Сахарова Г. А. Паспортизация чистых культур дрожжей. Винодел. и виногр. СССР, № 9, 13, 1947.
Сисакян Н. М., Егоров И. А. и Африкян Б. Л. Биохимические особенности сорта винограда и их связи с типом вина. Биохимия виноделия, Сб. 2, 7, 1948.
Сисакян Н. М., Попова Е. М., Егоров И. А. и Пучкова М. Г. О биохимической природе хересных вин. Биохимия виноделия, Сб. 2, 69, 1948.
Таиров В. Е. Из истории введения в практику русского виноделия дрожжей чистой культуры. Микробиол. журн., IX, вып. 1, 1929.
Тюнина Е. В. Круговорот дрожжей. Тр. Сев.-кавк. ин-та спец. и техн. культур, I, вып. 1, 101, 1931.
Фролов-Багреев А. М., Рябченко М. и Клоц И. Микроорганизмы плодово-виноградных сусел и вин. Снабтехиздат, 1933.
Фролов-Багреев А. М. Советское шампанское. Пищепромиздат, 1943.
Фролов-Багреев А. М. и Саенко Н. Ф. О дрожжах, выделенных из хересной пленки. Микробиология, XIV, вып. 5, 1945.
Циганков М. Ф. Полупроизводственные испытания чистых рас S. ellipsoideus. Изв. Туркм. филиала АН СССР, № 4, 42, 1949.
Чаленко Д. К. Причины понижения кислотности при брожении плодовых вин. Тр. Центр. научно-иссл. энохим. лабор., вып. 1, 92, 1941.
Чаленко Д. К. и Кульжинская Н. А. Изучение природы мути в крепких и десертных винах в бутылках. Тр. Центр. н.-и. энохим. лаборат., вып. 1, 35, 1941.
Чистович Т. А. Микробиологическая характеристика мышиной болезни вина. Винодел. и виногр. СССР, вып. 5, 9, 1939.
Шамис Д. Л. и Медведева Л. Е. Спиртоустойчивость и спиртообразовательная способность дрожжей. Изв. АН Каз. ССР, вып. 1, 1949.
Шумаков А. М. Дрожжевая микрофлора виноградной ягоды. Микробиология, XVII, 453, 1948.
Щербаков М. Ф. Крупный успех советского виноделия — новый путь получения вина типа херес. Винодел. и виногр. СССР, № 6, 3, 1939.
Щербаков М. Ф. и Попова Е. М. Делящиеся дрожжи Sch. mosquensis и их применение в технике. Микробиология, III, вып. 3, 1934.

РЕФЕРАТЫ

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

О каталитических функциях ди- и трикарбоновых кислот в энергетическом обмене у бактерий

(Сводный реферат иностранной литературы)

Работами Кребса, а затем и многих других исследователей было показано, что главным, а возможно и единственным, путем полного окислительного распада пировиноградной кислоты в животных тканях является путь конденсации ее со щавелевоуксусной кислотой и последующее ступенчатое декарбоксилирование и дегидрирование образовавшейся при этом трикарбоновой кислоты, с промежуточным участием дикарбоновых кислот: α-кетоглютаровой, янтарной, фумаровой и яблочной. Этот циклический процесс, результатом которого является полное окисление пировиноградной кислоты, был назван циклом Кребса.

В последнее время (1949—1950) появились исследования, доказывающие участие различных систем ди- и трикарбоновых кислот в окислительных процессах у бактерий. Эти исследования показывают, что бактериальная клетка (равно как и клетки прибов) в полной мере использует те ценные химические свойства ди- и трикарбоновых кислот, которые позволяют им занимать центральное место в обмене веществ. Так, Эйль и Веркман (Ajl a. Werkman, 1948) установили, что отдельные карбоновые кислоты — компоненты цикла Кребса — могут устранять потребность Bact. coli в CO_2. Баскет и Хиншельвуд (Baskett a. Hinshelwood, 1950), изучая скорость роста Bact. lactis aerogenes на различных соединениях углерода, нашли, что компоненты цикла Кребса являются одним из наиболее благоприятных субстратов для роста этого организма. Огинский и др (Oginsky и др., 1949) показали, что стрептомицин тормозит окисление пировиноградной кислоты клетками Bact. coli в присутствии щавелевоуксусной кислоты, не тормозя окисления ацетата. Авторы трактуют эти данные как косвенное доказательство того, что первой стадией окисления пировиноградной кислоты Bact. coli является ее конденсация со щавелевоуксусной.

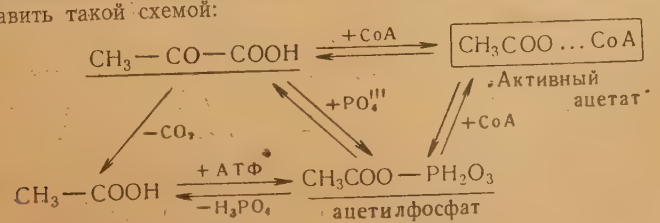
Исследования, проведенные с бактериальными препаратами, помогли раскрыть механизм основной реакции цикла Кребса — реакции конденсации «активного ацетата» с щавелевоуксусной кислотой. Новелли и Липпман (Novelli a. Lippman, 1950) установили, что препарат из клеток Bact. coli катализирует синтез лимонной кислоты из щавелевоуксусной и синтетического ацетилфосфата, участвующего в этой реакции в качестве донатора ацетильных групп. Необходимым компонентом ацетилирующей системы является коэнзим А (CoA), который представляет собой соединение нуклеотидного типа, содержащее аденин, рибозу, пантотеновую кислоту и фосфорную кислоту (Lippman и др., 1950). Далее было обнаружено, что некоторые бактерии (Chou и др., 1950) обладают ферментом, который катализирует перенос ацетильного остатка с ацетилфосфата на CoA:

$$CH_3-COOPH_2O_3 + COA \rightleftarrows CH_3COO \ldots COA + H_3PO_4.$$

Этот фермент был назван трансацетилазой.

Дальнейшие исследования показали, что, повидимому, комплекс $CH_3-COO...CoA$ и является тем непосредственным и универсальным донатором ацетильных групп, который ранее обозначался как «активный ацетат». Перенос ацетильной группы с ацетилированного коэнзима А на уксусную кислоту с образованием ацетоуксусной или на щавелевоуксусную кислоту с образованием лимонной, по данным Чоу и др. (Chou и др., 1950), Штерн и др. (Stern и др., 1950) осуществляется так называемым «конденсирующим ферментом». Этот фермент был найден в бактериях, в дрожжах, в животных тканях и был выделен в кристаллическом виде.

На основании приведенных данных механизм переноса ацетильных групп можно представить такой схемой:



где R — ацетилируемое соединение, АТФ — аденозинтрифосфат, CoA — коэнзим А. Участие реакции конденсации уксусной и щавелевоуксусной кислот в обмене Micrococcus lyzodeicticus было показано в работе Сац и Крампиц (Saz a. Krampitz, 1951), которые установили, что бесклеточный препарат M. lyzodeicticus осуществляет синтез меченой лимонной кислоты из щавелевоуксусной и меченой уксусной. По данным Штерн и Очоа (1950), бесклеточный препарат Azotobacter agile катализирует конденсацию уксусной и щавелевоуксусной кислот в лимонную. Однако эти данные находятся в противоречии с данными Карлсона и Баркера (Karlson a. Barker, 1948), которые сообщили, что им не удалось установить участие цикла Кребса в дыхании Azotobacter agile.

Отрицательный результат работы Карлсона и Баркера находит себе частичное объяснение в работе Кэмпбелла и Стокса (Kampbell a. Stokes, 1951). Эти авторы изучали окисление карбоновых кислот, входящих в цикл Кребса, суспензией клеток Pseudomonas aeruginosa, адаптированных к ацетату. При этом удалось выяснить, что живые клетки этого организма не способны окислять лимонную, цисаконитовую, изолимонную, α-кетаглютаровую, янтарную и фумаровую кислоты без периода предварительной адаптации, тогда как клетки Ps. aeruginosa, убитые высушиванием, интенсивно окисляют эти вещества без какого-либо периода адаптации. Таким образом, указанный организм, несомненно, обладает ферментными системами, окисляющими компоненты цикла Кребса, хотя для их обнаружения необходима предварительная адаптация, которая и создает ложное впечатление об адаптивном характере этих ферментных систем. Неспособность же живых клеток к окислению компонентов цикла Кребса без периода адаптации авторы объясняют тем, что клеточная мембрана Ps. aeruginosa мало проницаема для этих веществ. Выводам Карлсона и Баркера противоречат также данные Стоуна и Вильсона (Stone a. Wilson, 1952), показавших, что цикл Кребса участвует в дыхании Azotobacter agile.

Недавно Эйль с сотрудниками провели детальное изучение механизма окисления уксусной кислоты бактериями с применением C^{14}. Их метод заключался в основном в следующем: уксусная кислота, меченная в метильной группе радиоактивным углеродом ($C^{14}H_3 — COOH$), подвергалась окислению густой суспензией бактерий в присутствии отдельных немеченых компонентов цикла Кребса. В конце опыта суспензии центрифугировались и из центрифугата изолировались карбоновые кислоты, которые затем анализировались на содержание в них C^{14}. Внедрение радиоактивного углерода, находившегося в начале опыта только в уксусной кислоте, в состав немеченых соединений служило авторам критерием участия последних в качестве промежуточных про-

Таблица 1 (Ajl a. Wrong, 1951)

Взаимопревращения компонентов трикарбонового цикла в процессе обмена Aerobacter aerogenes

Исходное соединение, содержащее C^{14}, и его активность (в имп/мин)	Добавленные немеченые компоненты трикарбонового цикла	Соединения, изолированные в конце опыта	Активность изолированных соединений. (имп./мин)
Лимонная кислота 84 700	α-кетоглютаровая, уксусная к-та	Лимонная	4 079
		α-кетоглютаровая	1 344
		Уксусная	2 783
		Янтарная	576
α-кетоглютаровая к-та 90 600	Янтарная и уксусная кислоты	α-кетоглютаровая	2 089
		Янтарная	3 584
		Уксусная	1 823
		Фумаровая	1 908
Янтарная кислота 437 000	Фумаровая Яблочная уксусная к-ты	Янтарная	2 084
		Фумаровая	464
		Яблочная	2 149
		Уксусная	3 089
		Лимонная	5 632
Фумаровая кислота 81 000	Яблочная и уксусная к-ты	Фумаровая	15 104
		Яблочная	1 829
		Уксусная	2 881

дуктов в окислении уксусной кислоты. Эйль, Камен и др. (Ajl, Kamen и др., 1951), применив описанную методику, установили, что в окислении глюкозы суспензией Micrococcus lyzodeicticus участвуют все компоненты цикла Кребса. Так, например, было обнаружено, что при окислении $C^{14}H_3COOH$ суспензией клеток M. lyzodeicticus в присутствии немеченой α-кетоглютаровой кислоты C^{14} интенсивно внедряется во все углеродные атомы этого соединения. Подобные же данные были получены Стоуном и Вильсоном (1952а) с бесклеточным экстрактом Azotobacter aerogenes. Эйль и Вонг (Ajl a. Wong, 1951) показали, что сам механизм окисления бактериями уксусной кислоты может зависеть от характера субстрата, на котором выращивалась культура для получения суспензий. При окислении $C^{14}H_3COOH$ суспензией Aerobacter aerogenes, которая была получена из культуры, выращенной на лимонной кислоте, в присутствии немеченых лимонной, α-кетоглютаровой, янтарной, фумаровой и яблочной кислот наблюдалось быстрое внедрение C^{14} в состав всех этих соединений. Кроме того, были поставлены опыты, в которых более детально изучались взаимопревращения промежуточных продуктов окисления уксусной кислоты. Для этого меченая уксусная кислота окислялась суспензией, адаптированной к лимонной кислоте, в присутствии немеченой лимонной, меченая лимонная — в присутствии немеченой α-кетоглютаровой, меченая α-кетоглютаровая — в присутствии немеченой янтарной и т. д.

Результаты этих опытов, представленные в таблице, показывают, что все испытанные немеченые соединения (в том числе и немеченая уксусная кислота) приобретают метку в процессе окисления соответствующих кислот и, следовательно, являются промежуточными продуктами этого окисления.

Анализируя свои данные, авторы приходят к выводу о том, что клетки Aerobacter aerogenes, адаптированные к лимонной кислоте, окисляют уксусную кислоту через типичный цикл трикарбоновых кислот.

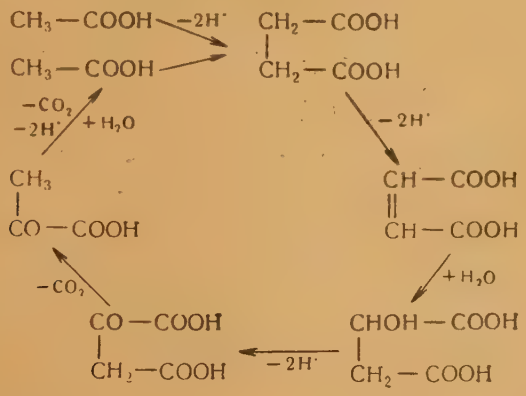
Совсем иную картину дали опыты, которые были проведены по такой же методике с культурами Aerobacter aerogenes, выращенными на уксусной кислоте (Ajl, 1951). Оказалось, что в этом случае получают метку (а значит и участвуют в окислении $C^{14}H_3 — COOH$) только четырехуглеродные дикарбоновые кислоты — янтарная, фумаровая, яблочная и щавелевоуксусная, хотя окислению могут подвергаться все компоненты цикла Кребса, включая лимонную и α-кетоглютаровую кислоты. Однако последние соединения не являются при этом промежуточными продуктами окисления уксусной кислоты.

Суммируя эти данные, авторы заключают, что клетки Aerobacter aerogenes, выращенные на уксусной кислоте, окисляют последнюю через цикл четырехуглеродных дикарбоновых кислот. Исходной реакцией этого цикла, по их мнению, является так называемая конденсация Тунберга — Кнопа — окислительная конденсация 2 молекул уксусной кислоты с образованием янтарной.

$$2CH_3 — COOH + DPN \rightleftarrows HOOC — CH_2 — CH_2 — COOH + DPNH_2,$$

где DPN — дифосфопиридиннуклеотид. Цикл дикарбоновых кислот можно изобразить такой схемой:

Цикл дикарбоновых кислот



Конденсация Тунберга — Кнопа, повидимому, требует присутствия фосфата, так как при окислении бактериями меченой уксусной кислоты в присутствии немеченой янтарной скорость вхождения C^{14} в состав янтарной кислоты зависела от концентрации неорганического фосфата (Ajl, 1951а).

В связи с этим можно полагать, что в этой реакции участвует аденозинтрифосфат, который синтезируется бактериями при окислении ими янтарной кислоты в присутствии PO_4''' (Hersey и Ajl, 1951).

Данные Эйль и др. об участии цикла дикарбоновых кислот в обмене Aerobacter aerogenes подтверждены в работах Дагли и др. Эти исследователи обнаружили, что

компоненты цикла Кребса ускоряют рост культур Aerobacter aerogenes на начальных стадиях их развития (Dagley и др., 1950). Далее эти авторы установили, что в культурах Aerobacter aerogenes на ранних этапах роста накапливается пировиноградная кислота, причем оказалось, что скорость ее накопления при окислении различных источников углерода распределяется так: на яблочной > чем на фумаровой > чем на янтарной > чем на уксусной. Исходя из этих данных авторы с достаточным основанием считают, что в обмене Aerobacter aerogenes участвует система дикарбоновых кислот, включающая конденсацию Тунберга — Кнопа (Dagley и др., 1951, 1951a).

Цикл дикарбоновых кислот, описанный для Aerobacter aerogenes, обнаружен и у ряда других бактерий. Так, Эйль (1950) нашел, что штаммы Bact. coli, адаптированные к окислению уксусной кислоты, окисляют компоненты цикла дикарбоновых кислот гораздо более интенсивно, чем неадаптированные.

Опыты по окислению меченой уксусной кислоты суспензией клеток в присутствии компонентов цикла Кребса показали (Ajl и Kamen, 1951), что окисление уксусной кислоты Bact. coli протекает через цикл дикарбоновых кислот и что лимонная и α-кетоглютаровая кислоты не участвуют в этом процессе. Способность же Bact. Coli к синтезу лимонной кислоты (Novelli и Lippman, 1950) является, по мнению авторов, побочной реакцией цикла дикарбоновых кислот.

Баррон и др. (Barron и др., 1950) установили, что культуры Corynebact. creatinovorans, адаптированные к окислению уксусной кислоты, окисляют четырехуглеродные дикарбоновые кислоты. В присутствии малоновой кислоты они синтезируют янтарную кислоту из уксусной, что доказывает участие в обмене указанного организма системы дикарбоновых кислот, включающей конденсацию Тунберга — Кнопа.

По данным Ван Ниля (см. Gest, 1951) пурпурная несерная бактерия Rhodospirillum rubrum не окисляет уксусную кислоту в отсутствие CO_2. Добавление же следов янтарной, фумаровой или яблочной (но не α-кетоглютаровой или лимонной) стимулирует окисление уксусной кислоты в отсутствие CO_2. Далее было показано, что при окислении Rh. rubrum уксусной кислоты в присутствии $C^{14}O_2$ последний фиксируется в янтарную кислоту. Эти данные, по мнению автора, свидетельствуют об участии цикла дикарбоновых кислот в фиксации CO_2 при окислении этим организмом уксусной кислоты.

Не исключена возможность участия системы дикарбоновых кислот и в анаэробном обмене. Так, Джонс (Johns, 1951), изучая обмен микрококка Veilonella gazogenes, который сбраживает молочную кислоту в пропионовую с выделением Co_2 и H_2, обнаружил, что это сбраживание идет через следующие промежуточные кислоты: молочная → пировиноградная → щавелевоуксусная → яблочная → фумаровая → янтарная → пропионовая.

ЛИТЕРАТУРА

Ajl S. J. Acetic acid oxidation by E. coli and Aerobacter aerogenes. J. Bact., **59**, 499, 1950.

Ajl S. F. Studies on the mechanism of acetate oxidation by bacteria. VI. Comparative patterns of acetate oxidation by citrate grown and acetate grown Aerobacter aerogenes. J. Gen. Physiol., **35**, 199, 1951.

Ajl S. J. Terminal respiratory patterns in microorganisms. Bact. Rev., **15**, 211, 1951a.

Ajl S. J., Kamen M. D., Ranson M. D., Noug D. T. O. Studies on the mechanism of acetate oxidation by Micrococcus lyzodeicticus. J. Biol. Chem., **189**, 859, 1951.

Ajl S. J., Werkman C. H. Replacement of CO_2 in heterotrophic metabolism. Arch. Bioch., **19**, 483, 1948.

Ajl S. J., Wong D. T. O. Studies on the mechanism of acetate acid oxidation bacteria. IV. Acetate oxidation by citrate grown. Aerobacter aerogenes studied with radioactive carbon. J. Bact., **61**, 379, 1951.

Barron E. S. J., Ardao M., Hearon M. The mechanism of acetate oxidation by Corynebacterium creatinovorans. Arch. Bioch., **29**, 130, 1950.

Baskett Ac., Hinshelwood C. N. The utilisation of carbon sources by Bacterium lactis aerogenes. General survey. Proc. Roy. Soc. B, **136**, 520, 1950.

Campbell J. R., Stokes F. N. Tricarboxylic acid cycle in Pseudomonas aeruginosa. J. Biol. Chem., **190**, 853, 1951.

Chou T. C., Novelli G. D., Stadtman E. R., Lippman F. Fractionation of coenzyme A acetyl-transfer system. Feder. Proc., **19**, 160, 1950.

Dagley S., Daves E. V., Morrison H. A. Factors influencing the early phases of growth of Aerobacter aerogenes. J. Gen. Microb., **4**, 437, 1950.

Dagley S., Morrison G. A., Daves E. A. The dicarboxylic acid cycle in bacterial metabolism. Arch. Bioch., **32**, 23, 1951.

Dagley S., Daves E. V., Morrison H. A. The kinetics of pyruvate production by Aerobacter aerogenes. J. Gen. Microb., **5**, 508, 1951a.

Gest H. Metabolism Patterns in photosyntetic bacteria. Bact. Rev., **15**, 183, 1951.

Hersey D. F., Ajl S. J. Adenosine triphosphate formation due to the oxidation of succinic acid by bacteria. J. Biol Chem., **191**, 113, 1951.

Johns A. T. The mechanism of propionic acid formation by Veilonella gazogenes. J. Gen. Microbiol., **5**, 326, 1951.
Karlsson J. L., Barker E. A. Evidence against the occurrence of tricarboxylic acid cycle in Azotobacter agile. J. Biol. Chem., **175**, 913, 1948.
Lippman F., Kaplan N. O., Novelli G. D., Tuttle L. C. Isolation of coenzyme A. J. Biol. Chem., **186**, 235, 1950.
Novelli G. D., Lippman F. The catalytic function of coenzyme A in cytric acid synthesis. J. Biol. Chem., **182**, 213, 1950.
Oginsky E. L., Smith P. H., Umbreit W. W. The action of streptomycin I. The nature of the reaction inhibited. J. Bact., **58**, 747, 1949.
Saz H. I., Krampitz L. O. Acetate oxidation by Micrococcus lyzodeicticus. Feder. Proc., **10**, 243, 1951.
Srern J. R., Ochoa S. Enzymatic synthesis of cytric acid. Feder. Proc., **9**, 234, 1950.
Stern J. R., Shapiro B., Ochoa S. Synthesis and breakdown of cytric acid with crystalline condencing enzyme. Nature, **166**, 403, 1950.
Stone R. W., Wilson P. W., Respiratory activity of cell free extracts from Azotobacter. J. Bact., **63**, 605, 1952.
Stone R. W., Wilson P. W. The incorporation of acetate in acids of the citric acid by Azotobacter extracts. J. Biol. Chem., **196**, 817, 1952a.

Ю. Сорокин

Kambar C. S., Reinbold G. W. and Hussong R. V. **A plating method for the isolation and enumeration of propionibacteria.** (Чашечный метод выделения и подсчета пропионовокислых бактерий). J Dairy Science, v. XXXV, No. 1, p. 914, 1952.

Авторы настоящей статьи занялись изысканием простого и быстрого метода для культивирования и подсчета пропионовокислых бактерий, которые, являясь факультативными анаэробами, требуют для поддержания соответствующих условий роста внесения в среду восстанавливающего агента. Последний должен обладать следующими свойствами: 1) не быть токсичным в примененной концентрации; 2) быть водорастворимым и относительно устойчивым; 3) не затемнять развившиеся колонии и 4) давать желаемый окислительно-восстановительный потенциал в течение длительного времени. Наиболее пригодным оказался тиогликолат натрия. Авторами было исследовано 24 различные культуры пропионовокислых бактерий. Для исследования бралась бульонная культура, выдержанная в течение 48 час. при 30°. Бульон приготовлялся путем внесения в дистиллированную воду 5 г дрожжевого экстракта Дифко, 5 г глюкозы и 20 г BB триптиназы, с доведением объема до 1000 мл и установлением pH = 7,0. Бульон разливался по 9 мл и автоклавировался при 121° в течение 20 мин. Для чашек применялась питательная среда того же состава, но с добавлением 1,5% агара. Этот агар обозначался «нижним слоем». «Верхний слой» приготовлялся добавлением различных количеств тиогликолата натрия и агара в дистиллированную воду. Смесь разливалась по 70 мл и автоклавировалась при 121° в течение 30 мин. Техника метода заключалась в следующем. Соответствующие разведения бульонной культуры вносились в стерильные чашки Петри. Сюда же добавлялся расплавленный и охлажденный до 45° агар «нижнего слоя». Посевной материал и агар тщательно перемешивались. На застывший «нижний слой» в каждую чашку Петри наливалось по 70 мл расплавленного «верхнего слоя». Чашки выдерживались в течение 10 дней при 30°. Подсчет колоний производился при помощи счетчика Квебека с темным полем.

Изучению подвергались различные концентрации тиогликолата натрия и агара в «верхнем слое», применение тиогликолата натрия в двух слоях и в одном «нижнем слое».

Выяснилось, что с одинаковым успехом могут применяться 0,05% тиогликолата натрия в «верхнем слое» и 0,5% — «в нижнем» (получалось одинаковое число колоний). Однако, когда восстанавливающий агент применялся в «нижнем слое», получалась большая равномерность в размерах колоний. Поэтому авторы рекомендуют применять для «верхнего слоя» обычный 1,5%-ный агар и для «нижнего слоя» — агар с содержанием 0,5% тиогликолата натрия. При таком методе получались большие количества бактерий и крупные колонии, что свидетельствует об общей пригодности метода. Кроме того, этот метод дает возможность выделить колонии из чашек. Для этого верхний слой удаляется стерильным шпателем и колонии становятся доступными для выделения. Метод, предложенный авторами, основывается на понижении окислительно-восстановительного потенциала в питательной чашечной среде. Этот понижен-ный потенциал защищается нанесением второго слоя обычного агара.

Н. Белоусова

Lindegreen C. and Palleroni N. **Absence of the pre-adaptive utilization of galactose by yeast,** (Неспособность дрожжей использовать галактозу без предварительной адаптации). Nature, v. 169, No. 4308, pp. 879—880, 1952.

Дрожжи, генетически неспособные сбраживать галактозу, требуют длительного приучения, прежде чем они смогут использовать ее. В противоположность этому имеются работы (Spiegelman, Reiner u. Cohnberg, 1947), утверждающие, что дрожжи могут сбраживать галактозу без предварительной адаптации. Авторы основывают свой вывод на том, что после добавления галактозы в суспензию неадаптированных клеток, дрожжи сразу же начинали поглощать O_2 и выделять CO_2.

Авторы настоящей статьи утверждают, что дрожжи неспособны сбраживать галактозу без предварительной адаптации, а данные Шпигельмана с сотрудниками объясняют тем, что галактоза бывает различных образцов, и в описанных ими опытах использовалась неочищенная галактоза, содержащая другие примеси, например, глюкозу. Поэтому выделение CO_2 и послужило обманчивым критерием, что сбраживается сама галактоза, в то время как сбраживалась лишь глюкоза. Используя в своей работе дрожжи Saccharomyces cerevisiae, сбраживающие галактозу, и в качестве контроля дрожжи Schizosaccharomyces pombe, не сбраживающие галактозы, авторы еще раз с полной очевидностью доказали, что очищенную галактозу без предварительной адаптации дрожжи сбраживать не могут.

Н. Вербина

Ryman B. E. and Walsh E. O. F. **Some effects of cocaine on the metabolism of Saccharomyces cerevisiae)** (Некоторые воздействия кокаина на обмен веществ Saccharomyces cerevisiae). Biochem. J. v. 50, № 4, pp. 570—573, 1952.

В предыдущей работе (1951) авторы установили, что внесение в среду витамина B_1 значительно изменяло обмен веществ дрожжей по сравнению с дрожжами, которые выращивались в присутствии кокаина.

Имеющиеся литературные данные (Соок и Mc Devitt, 1945) о том, что добавление витамина B_1 угнетает сбраживание глюкозы дрожжами, выращенными в присутствии кокаина, в то время как нормальные клетки, наоборот, незначительно активируются при внесении витамина B_1 в среду, навели авторов настоящей статьи на мысль об изучении влияния кокаина на карбоксилазную активность дрожжей Saccharomyces cerevisiae. Пытаясь раскрыть механизм действия кокаина на дрожжи, авторы не смогли точно определить, действует ли кокаин на всю клетку в целом или только нарушает проницаемость клеточной оболочки. Однако точно установлено, что угнетающее действие кокаина (так же, как и других алкалоидов) зависит от pH среды.

При pH = 6 дрожжи хорошо развивались в присутствии кокаина в среде, если концентрация его не превышала 0,004 М. Концентрация 0,005 М кокаина незначительно угнетала дрожжи, а при pH = 7 эта же концентрация полностью подавляла карбоксилазную активность дрожжей.

Авторы показали, что дрожжи можно приучить к этому наркотику. Дрожжи, приученные к кокаину, хорошо развивались и при отсутствии кокаина в среде. При pH-7 карбоксилазная активность как приученных, так и обычных дрожжей, угнеталась кокаином в одинаковой степени.

Н. Вербина

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

С. Н. Виноградский. **Микробиология почвы (проблемы и методы)**. Изд. АН СССР, М. 1952. 792 стр. Ц. 48 р. 75 к.

Вышедшее в свет в 1952 г. собрание трудов С. Н. Виноградского «Микробиология почвы» представляет собой ценный вклад в литературу по общей и почвенной микробиологии.

Сборник содержит переводы 60 статей С. Н. Виноградского, опубликованных им в разное время в иностранных периодических изданиях.

Основному материалу книги предпосылается предисловие, составленное редактором сборника А. А. Имшенецким, посвященное жизни и научной деятельности Виноградского.

Книга делится на десять частей, посвященных изучению отдельных физиологических групп микроорганизмов и вопросов микробиологии (первые автотрофы, морфология бактерий, нитрификация, анаэробное усвоение азота, мочка льна, методы почвенной микробиологии, о разрушении целлюлозы в почве, азотобактер, исследование симбиотической азотфиксации, основные положения экологической микробиологии).

С. Н. Виноградский — классик микробиологии. Его работы имели большое значение для развития отечественной науки, поэтому издание сборника «Микробиология почвы» является вполне целесообразным.

Объем рецензируемой книги не позволяет подробно останавливаться на всех ее разделах.

Приводимые в сборнике материалы с достаточной полнотой освещают значение работ С. Н. Виноградского для развития основных проблем микробиологии.

Достаточно упомянуть открытие хемосинтеза у серобактерий, железобактерий и нитрифицирующих бактерий, разработку основ экологического направления в почвенной микробиологии, принцип элективных сред, методы прямого счета микробов в почве, детальное изучение физиологии азотобактера, открытие анаэробной азотфиксирующей бактерии.

Работы С. Н. Виноградского послужили фундаментом для дальнейших исследований, и потому их значение трудно переоценить. Однако нельзя не высказать нескольких критических замечаний по поводу сборника его трудов.

Прежде всего, название книги не соответствует ее содержанию, так как приводимые в ней работы касаются микроорганизмов, обитающих в почве, но изучение почвы в широком микробиологическом аспекте отсутствует, она только материал, откуда извлекаются микроорганизмы для исследования.

Сборник правильнее было бы назвать «Почвенные и водные микроорганизмы», так как в него включены работы и по водным микроорганизмам (серо- и железобактерии).

Экологический принцип, впервые внесенный в микробиологию С. Н. Виноградским вместе с целым рядом новых методов исследования, позволил заглянуть в почву и найти огромную разницу между результатами, полученными старыми методами и с применением методов С. Н. Виноградского.

С. Н. Виноградский придает большое значение той естественной обстановке, в которой обитают микроорганизмы в природе, он подчеркивает необходимость изучения функции микробов и среды, к которой они приспособлены.

В этом отношении особенно поучительны его работы по изучению физиологии азотобактера (стр. 693, 694), показавшие, что спирты и кислоты жирного ряда дают возможность проявить азотобактеру свою функцию, в то время как на сахарах он быстро вытесняется другими микроорганизмами.

Нужно сказать, что экологический принцип, внесенный С. Н. Виноградским в микробиологию, не только не достаточно развивается в современной микробиологии, но часто, даже не всегда, правильно понимается многими микробиологами. Между тем глубокое проникновение в экологию микроорганизмов, тщательное изучение естественных условий их обитания (вместо простой замены мясо-пептонного бульона рыбо-пептонным, например в морской микробиологии) несомненно откроют широкие перспективы в развитии микробиологии.

С. Н. Виноградский показал огромное многообразие морфологических и физиологических особенностей микроорганизмов почвы, но в его работах не исследуется ни влияние одних физиологических групп микроорганизмов на другие, ни изменение почвы под влиянием микроорганизмов. Микробные ландшафты, полученные С. Н. Виноградским в почвах различного происхождения, по его мнению, не отличаются друг от друга

(стр. 457), т. е. почва, как экологический фактор, не влияет на микробное население. Создание С. Н. Виноградским учения об элективных средах положило начало новой эпохе в микробиологии. И, хотя углубленное изучение физиологии микроорганизмов заставило модифицировать элективные среды путем добавления к ним витаминов, микроэлементов, стимуляторов роста, принцип элективных сред сохраняет и поныне свое значение.

В настоящее время нет такой области в микробиологии, где бы элективные среды не применялись, но, несмотря на это, нельзя не заметить, что С. Н. Виноградский несколько преувеличивал их специфичность для определенных групп микроорганизмов и считал, что на элективных средах, например, для нитрификаторов и азотобактера, развиваются только указанные микроорганизмы, а сопутствующая микрофлора находится в латентном состоянии (стр. 171, 784). В настоящее время накапливаются факты, противоречащие этому положению и показывающие, что на обычных лабораторных «безорганических» средах гетеротрофные микроорганизмы размножаются, по всей вероятности, за счет следов органического вещества, попадающего в жидкость из воздуха или иными путями.

Работы С. Н. Виноградского по морфологии и циклам развития микробов были направлены против развивавшейся в то время теории циклогении, порочность которой доказана, хотя сам он рассматривал изменчивость бактерии с несколько мономорфистских позиций (стр. 138, 139).

Исследования Виноградского по серобактериям, являющиеся крупным вкладом в микробиологию, еще при жизни Виноградского были дополнены фактами, говорящими о том, что некоторые виды этих микроорганизмов следует отнести к миксотрофам, а не к автотрофам (стр. 787, 788).

Нитрификаторы, открытые и глубоко изученные С. Н. Виноградским, оказались способными выдерживать бо́льшие количества органического вещества, чем он предполагал. Обилие видов нитрифицирующих бактерий, описанное в последних работах С. Н. Виноградского, не подтвердилось позднейшими исследователями других авторов.

Непроходимая пропасть, разделяющая, по мнению С. Н. Виноградского, хемотрофных и гетеротрофных микроорганизмов, постепенно заполняется фактами, говорящими о возможности усвоения органического вещества многими автотрофными микроорганизмами.

Все эти данные, однако, нисколько не колеблют учения о хемосинтезе, как о процессе, осуществляемом определенными микроорганизмами в конкретных условиях среды.

Работы С. Н. Виноградского по анаэробной и аэробной фиксации азота создали целый раздел микробиологии, особенно его исследования по морфологии и физиологии азотобактера, в которых гармонично сочетались морфологические и физиологические методы изучения. Этот раздел микробиологии успешно развивается и в вопросе о механизме фиксации азота уже внесены существенные дополнения (М. В. Федоров), например, доказательство вторичности аммиака в культурах, в то время как Виноградский считал его первым продуктом связывания молекулярного азота (стр. 541).

Все сказанное выше не умаляет значения научного наследства С. Н. Виноградского, и необходимость ознакомления с ним молодого поколения микробиологов очевидна, но рост и развитие микробиологии не позволяют нам теперь принять некоторые его положения безоговорочно.

Несколько слов следует сказать о технической стороне издания. Несомненно, что обобщение приведенных в сборнике статей в виде монографии с логической связью и последовательностью изложения, вместо расположения материала просто в хронологическом порядке, значительно улучшило бы книгу.

Можно отметить некоторые шероховатости, допущенные при редактировании книги, например не совсем удачен буквальный перевод слова Spontanees как «самопроизвольные» применительно к культурам (стр. 534). На стр. 537 правильнее было бы перевести: «почва становится средой для самопроизвольного развития культуры», вместо «почва становится средой для развития самопроизвольной культуры».

Подписи под рис. 52 и 53 лучше было бы перевести как самопроизвольно развившиеся колонии, а не «самопроизвольные колонии».

Надписи в табл. XVII следовало бы сделать единообразными: если написано «почва из России (Тула)», то нужно писать почва из Франции (департамент Сомы), почва из Франции (Бри), почва из Германии (нижнее течение Рейна).

Указанные недостатки не снижают ценности книги С. Н. Виноградского «Микробиология почвы».

Несомненно, что книга найдет широкий круг читателей как в среде самостоятельных научных работников, так и в среде начинающих молодых микробиологов.

Коллектив, много потрудившийся над изданием этой книги, можно поздравить с хорошо выполненной и нужной работой.

Е. Рубан

БИБЛИОГРАФИЯ ИНОСТРАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ (1951—1952 гг.)

(Продолжение, см. т. XXII, № 6)

В) МЕТОДЫ И ТЕХНИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Andersen A. A. A rapid plate method of counting spores of Clostridium botulinum. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 4, p. 425—432.

Brownlee K. A. and Lapedes D. N. The effects of design upon the error of a microbiological assay for vitamin B_{12}. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 4, p. 433—444.

Chapman G. H. A simple method for making multiple tests of a microorganism. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 1, p. 147.

Decker H. M., Geile F. A., Harstad J. B. and Gross N. H. Spun glass air filters for bacteriological cabinets, animal cages and shaking machine containers. J. Bact., 1912, vol. 63, No. 3, p. 377—383.

Dirkx J. L'acide ribonucléique des moisissures. I. Une technique rapide de dosage. Biochim. Biophys. Acta, 1952, vol. 8, No. 2, p. 194—201.

Dold H. Zähldeckel für Petri-Schalen zur Keimzahlbestimmung. Zbl. Bakt., Abt. I. Orig., 1951, Bd. 157, H. 6, S. 457—459.

Eades Ch. H., McKay B. P. and Romans W. E. Automatic titrating and recording apparatus for microbiological assays. Federat. Proc., 1952, vol. 11, No. 1, part 1, p. 205.

Elion E. An improved block for sporeformation in yeast. Nature, Lond., 1951, vol. 168, No. 4287, 1130.

Furness G. and Gaze H. W. A method of preparing individual sterile pipettes. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 6, No. 1 2, p. 149.

Fuson R. B. and Marcus S. An automatic bacteriological inoculating device. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 4, p. 561—562.

Grigg G. W. Back mutation assay method in microorganisms. Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 42 0, p. 98—100.

Hauduroy P. Techniques bactériologiques. Paris, 1951, VII + 167 p.

Hedén C. G., Malmgren B., Sundström K. and Törnqvist B. Studies on the cultivation of microorganisms on a semi-industrial scale. II. Construction. of the equipment, Acta path. Microbiol. Scand., 1952, vol. 30, fasc. 3—4, p. 284—303.

Hollis J. P. A rapid photometric method for determining generation time of fungi. Phytopathology, 1952, vol. 42, No. 1, p. 11.

Janke R. G. Eine zusammengesetzbare Kulturschale von variabler Grösse. Zbl. Bakt., Abt. I. Orig., Bd. 157, H. 7, S. 51[illegible]—520.

Johns C. K. A „Loop" method for counting viable bacteria of bacteriophage. Canad. J. Med. Sci., 1951, vol. 29, No. 4, p. 236—237.

Kann E. E. A liquid culture method for the study of genetic recombination in Escherichia coli. J. Bact., 1953, vol. 63, No. 3, p. 421—423.

Lederberg J. and Lederberg E. M.. Replica plating and indirect selection of bacterial mutants. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 3, p. 399—406.

Marchal J. G. and Mittwer T. A new technique for filter paper chromatography. Proc. Kon. Ak. Wetensch., Amsterdam, Ser. C., 1951, vol. 54, No. 4, p. 391—392.

Partmann W. und Montfort L. Ein neuer Impfkasten. Zbl. Bakt., Abt. I. Orig., 1952, Bd. 157, H. 8, S. 611—619.

Richardson J. K. A simple nephelometer. Phytopathology 1952, vol. 42, No. 3, p. 171.

Semenitz E. Eine neue Methode der Bakterienzählung. Z. Hyg., 1951, Bd. 133, H. 4, S. 281—282.

Shils M. E., Horowitz M., Gelman A. Ch. and Sass M. An ultramicronutritional bioassay technique employing seeded agar tubes. Science, 1952, vol. 115, No. 2993, p. 517—519.

Simmons S. A., and Shoemaker R. A. Differential staining of fungus and host cells using a modification of Pianeze III B. Stain Technol., 1952, vol. 27, No. 2, p. 121—122.

Stickland L. H. The determination of small quantities of bacteriea by means of the biuret reaction. J. gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 4, p. 698—703.

Underwood N. and Deerman A. H. A recording photo-electric nephelometer. Physiol. Rev., 1951, vol. 63, No. 2, p. 489.
Vinet G. and Fredette V. Apparatus for the culture of bacteria in cellophane tubes. Science, 1951, vol. 114, No. 2969, p. 549—550.
Wilson E. R. Some observations on the error of bio-assay. Proc. nat. Acad. Sci., Wash., 1952, vol. 38, No. 2, p. 97—99.
Wolff H. L. Experiments with an apparatus for lyophile desiccation of microorganisms. Antonie van Leeuwenhoek, 1952, vol. 18, No. 2, p. 113—124.
Zubal B. Einfluss von Säure-und Alkaliwirkung auf die Färbung der Bakteriensporen. Zbl. Bakt., Abt. I. Orig., Bd. 157, H. 7, S. 521—522.

II. СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

а) Почвенная микробиология. Бактериальные удобрения

Allison L. E. Vapor-phase sterilization of soil with ethylene oxide. Soil. Sci., 1951, vol. 72, No. 5, p. 341—352,
Aprison M. H. and Burris R. H. Time course of fixation of N_2 by excised soybean nodules. Science, 1952, vol. 115, No. 2984, p. 264—265.
Baird K. J. Multiple infection of clover plants by strains of the nodule organism in the field. Nature, Lond., 1951, vol. 168, No. 4264, p. 116—117.
Barjac H. Contribution à l'étude du métabolisme des acides aminés soufrés, et spécialement de la méthionine dans le sol. Ann. Inst. Pesteur, 1952, t. 82, No. 5, p. 623—628.
Barnett A. J. G. Decomposition of nitrate in mixtures of minced grass and water. Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 4298, p. 459.
Béguet M. Essai d'inoculation de Bacillus radicicola à des semences de luzerne. Arch. Inst. Pasteur d'Algérie, 1951, vol. 29, No. 3, p. 244—245.
Bond G. The fixation of nitrogen associated with the root nodules of Myrica gale L., with special reference to its pH relation and ecological significance. Ann. Bot., 1951, vol. 15, No. 60, p. 447—459.
Casas-Campillo C. Rizobacidina, un antibiotico con particular actividad para las bacterias de los nodeles de las leguminosas. Ciencia. 1951, vol. 11, No. 1—2, p. 21—28.
Cooper D. C., Rieman G. H., Hougas R. W., Stokes G. W. and Gasiorkiewicz E. Mycorrhizalike mycelium in potato tubers. Phytopathology, 1952, vol. 32, No. 1, p. 25.
Corpe W. A. A study of the wide spread distribution of Chromobacterium species in soil by a simple technique. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 4, p. 515—517.
Daji J. A., Patel M. K. and Kibe M. M. Molasses and mohua flowers as sources of energy for Azotobacter. Proc. Indian Acad. Sci., Sect. B., 1951, vol. 33, No. 6, p. 322—326.
Demolon A. La symbiose bactérienne et la culture des légumineuses. C. R. Soc. Naturell. Maroc., 1950, No. 6 bis, p. 98—106.
Dole M. W. The Aspergillus niger method for determining copper in soils. Soil. Sci., 1952, vol. 73, No. 2, p. 135—147.
Edson S. N. and Smith F. B. A preliminary investigation of the growth response of Aspergillus niger to various levels of copper as a biological method of determining available copper in soils. Quart. J. Florida Acad. Sci., 1950, vol. 12, No. 4, p. 235—240.
Egle K. und Munding H. Über den Gehalt an Häminkörpern in den Wurzelknöllchen von Nicht-Leguminosen. Naturwiss., 1951, Jg. 38, H. 23, S. 548—549.
Emmons Ch. W. Isolation of Cryptococcus neoformans from soil. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 6, p. 685—690.
Erdman L. W. The effectivity of different strains Rhizobium on annual and perennial lespedezas. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 1951, vol. 15, p. 173—176.
Erdman L. W., and Means U. M. Use of total yield for predicting nitrogen content of inoculated legumes grown in sand cultures. Soil. Sci., 1952, vol. 73, No. 3, 231—235.
Fogg G. E. Studies of nitrogen fixation by blue-green algae. II. Nitrogen fixation by Mastigocladus laminosus Cohn. J. exp. Bot., 1951, vol. 2, No. 4, p. 117—120.
Gottlieb D. The disappearance of antibiotics from soil. Phytopathology, 1952, vol. 42, No. 1, p. 9.
Gottlieb D. and Siminoff P. The production and role of antibiotics in the soil II. Chloromycetin. Phytopathology, 1952, vol. 42, No. 2, p. 91—97.
Guérillot J. et Thaize P. Comparaison de l'action de divers engrais phosphatés sur le développement de l'Azotobacter cultivé sur terre artificielle. Inst. Nation. Recherche Agron. Sér. A. Ann. Agron., 1951, vol. 2, No. 1, p. 26—30.
Hessayon O. G. „Double-action" of trichothecin and its production in soil. Nature, Lond., 1951, vol. 168, No. 4284, p. 998—999.
Heumann W. Über Wesen und Bedeutung der Bakteroide in den Wurzelknöllchen der Erbse. Naturwiss., 1952, Jg. 39, H. 3, S. 68.

Heumann W. Über das Abhängigkeitsverhältnis zwischen Hämoglobin-, Stärke-Bakteroidvorkommen und Stickstoffbindung in den Wurzelknöllchen der Erbse Naturwiss., 1952, Jg. 39, H. 3, S. 66–67.

Hewitt E. J. and Hallas D. G. The use of Aspergillus niger (van Tiegh.) M. strain as a test organism in the study of molybdenum as a plant nutrient. Plant, Soil, 1951, vol. 3, No. 4, p. 366—408.

Hofmann E. und Seegerer A. Über das Enzymsystem unserer Kulturboden. I. Saccharase. Biochem. Z., 1951, Bd. 322, H. 3, S. 174—179.

Hoyle D. A. and Mattingly G. E. G. Soluble and available nitrogen in manurial composts. Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 4290, p. 116—117.

Jackman R. H. and Black C. A. Phytase activity in soils. Soil. Sci., 1952, vol. 73, No. 2, p. 117—125.

Jacobelli G. Sur la flore de la rhizosphère des Légumineuses. C. R. Acad. Sci., Paris. 1952, t. 234. No. 6, p. 661—663.

Johnson M. D. and Allen O. N. Cultural reactions of rhizobia with special reference to strains isolated from Sesbania species. Antonie van Leeuwenhoek, 1952, vol. 18, No. 1, p. 1—12.

Johnson M. D. and Allen O. N. Nodulation studies with special reference to strains isolated from Sesbania species. Antonie van Leeuwenhoek, 1952, vol. 18, No. 1, p. 13—22.

Jones L. W. Stability of DDT and its effect on microbial activities of soil. Soil Sci., 1952, vol. 73, No. 3, p. 237 241.

Jordan D. C. Studies on the legume root nodule bacteria. II. The production and behaviour of colonial mutants produced by X-ray irradiation. Canad. J. Bot., 1952, vol. 30, No. 2, p. 125—130.

Kauffmann J. et Boquet G. Nouvelle méthode de détermination du pouvoir nitrificateur d'une terre. Ann. Inst. Pasteur, 1951, t. 81, No. 6, p. 667—669.

Kingma Boltjes T. Y., Less H. Isolation of nitrifying organisms and oxygen supply. Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 4313, p. 1106 1107.

Legge B. J. Use of glass fibre material in soil mycology, Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 4305, p. 759–760.

Lemoigne M., Girard H. et Jacobelli G. Recherches d'écologie microbienne. Décomposition du saccharose par les microbes du sol en présence de nitrate ou d'un sel ammoniacal. Ann. Inst. Nat. Rech. Agron. Ser. A. Ann. Agron., 1951, vol. 2, No. 2, p. 89—101.

Lemoigne M., Girard H. et Jacobelli G. Bactérie du sol utilisant facilement le 2—3 butanediol. Ann. Inst. Pasteur, 1952, t. 82, No. 4, p. 389—398.

Lochhead A. G. and Thexton R. H. Qualitative studies of soil microorganisms. X. Bacteria requiring vitamin B_{12} as growth factor. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 2, p. 219—226.

Lynch D. L. and Sears O. H. Differential response of strains of lotus nodule bacteria to soil treatment practices. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 1951, vol. 15, p. 176—180.

McCalla T. M. Studies on the effect of microorganisms on rate of percolation of water through soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 1951, vol. 15, p. 182—186.

McCalla T. M. and Goodding T. H. Microorganisms and their effects on crops and soils. Circ. Nebraska Agric. exp. Sta., 1951, vol. 90, p. 1—16.

McClung N. M. Actinomycetes in local soils. Trans. Kansas Acad. Sci., 1951, vol. 54, No. 2, p, 218—220.

Mattingly G. E. G. Changes in the distribution of nitrogen during the composting of straw. Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 4289, p. 75—76.

Michniewicz M. Badania nad nitryfikacja i denitryfikacja w glębach Puszczy Białowieskiej. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska. Lublin, 1951. Sectio C., vol. 6, 2, p. 19 75.

Newbould F. H. S. Studies on humus type legume inoculants. I. Growth and survival in storage. Sci. Agric., 1951, vol. 31, No. 11, p. 463—469.

Nutman P. S. Host factors influencing infection and nodule development in leguminous plants. Proc. Roy. Soc. B., 1952, vol. 139, No. 895, p. 176—185.

Nutman P. S. Studies on the physiology of nodule formation, III. Experiments on the excision of root-tips and nodules. Ann. Bot., 1952, vol. 16, No. 1, p. 79—101.

Nutman P. S. and Read M. P. Symbiotic adaptation in local strains of red clover and nodule bacteria. Plant Soil, 1952, vol. 4, No. 1, p. 57—75.

Plotho O. Weitere Untersuchungen zur Humusbildung der Mikroorganismen. Z. Pflanzenernähr, Düng. Bodenkunde, 1951, Bd. 55, No. 2, S. 151—169.

Pochon J. et Chalvignac M. A. Sur l'instabilité des caractères d'une souche de Sporovibrio. Ann. Inst. Pasteur, 1952, t. 82, No. 4, p. 399—403.

Prévot A. R. et Moureau M. Recherches sur les bactéries anaérobes de la Terre Adélie (prélevées par la première expédition antarctique française). Ann. Inst. Pasteur, 1952, t. 82, No. 1, p. 13—18.

Quastel J. H., Scholefield P. G. and Stevenson J. W. The isolation of bacteria from soil perfused with pyruvic acid oxime. Biochem. J., 1952, vol. 51, No. 2, p. 284—286.

Quastel J. H., Scholefield P. G. and Stevenson J. W. Oxidation of pyruvic acid oxyme by soil organisms. Biochem. J., 1952, vol. 51, No. 2, p. 278—284.
Quispel A., Harmsen G. W. and Otzen D. Contribution to the chemical and bacteriological oxidation of pyrite in soil. Plant Soil, 1952, vol. 4, No. 1, p. 43—55.
Redmond D. R. and Cutter V. M. An example of synergistic growth inhibition between rootinhabiting fungi. Mycologia, 1951, vol. 43, No. 6, p. 723—726.
Ruhloff M. and Burton J. C. Compatibility of rhizobia with seed protectants. Soil Sci., 1951, vol. 72, No. 4, p. 283—290.
Ruschmann G. Über Antibiosen und Symbiosen von Bodenorganismen und ihre Bedeutung für die Bodenfruchtbarkeit. Mitt. I. Über Antibiosen und Symbiosen der Organismen auf festen Nährböden und in Nährlösungen. Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkunde, 1951, Bd. 55, H. 3, S. 201—235.
Staffeldt E. E. and Semeniuk G. Pythium and other fungi colonizing sterilized straw in the soil. Phytopathology, 1952, vol. 42, No. 1, p. 20.
Stalder L. Über Dispositionsverschiebungen bei der Bildung von Wurzelknöllchen. Phytopath. Z., 1952, Bd. 18, H. 4, S. 376—403.
Stapp C. und Freter R. Untersuchungen über die Wirkung von 2,4 D im Boden. Phytopath. Z., 1952, Bd. 18, H. 4, S. 365—375.
Steinberg R. A. Occurrence of Bacillus cereus in Maryland soils with frenched tobacco. Plant Physiol., 1951, vol. 26, No. 4, p. 807—811.
Stockli A. Versuche mit Azotobacter Kulturen. Landw. Jahrb. Schweiz., 1951, Bd. 65, No. 1—2, S. 187—209.
Stolp H. Beiträge zur Frage der Beziehungen zwischen Mikroorganismen und höheren Pflanzen. Arch. Mikrobiol., 1952, Bd. 17, H. 1, S. 1—29.
Taylor R. H. Soil sterilization. J. Dept. Agric. Victoria, 1951, vol. 49, No. 5, p. 223—228, 231.
Thornton H. G. The symbiosis between Rhizobium and leguminous plants and the influence on this of the bacterial strain. Proc. Roy. Soc. B., 1952, vol. 139, No. 895, p. 171—176.
Timonin M. I. and Thexton R. H. The rhizosphere effect of onion and garlic on soil microflora. Soil. Sci. Soc. Amer. Proc., 1951, vol. 15, p. 186—189.
Viets F. G. and Crawford C. L. The influence of nitrogen supply on the growth and nitrogen fixation of hairy vetch. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 1951, vol. 15, p. 234—238.
Vindard M. G. et Daste M. Ph. Influence de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique sur le développement de l'Azotobacter dans le sol. C. R. Acad. Sci., Paris, 1951, t. 233, No. 21, p. 1310—1312.
Vlitos A. J. Biological activation of sodium 2-(2,4-dichlorophenoxy) ethyl sulfate by Bacillus cereus var. mycoides. Contrib. Boyce Thompson Inst., 1952, vol. 16, No. 9, p. 435—436.
Vlitos A. J. and Hocker W. J. The influence of sulfur on populations of Streptomyces scabies and other streptomycetes in peat soil. Amer. J. Bot., 1951, vol. 38, No. 9, p. 678—683.
Wang T. L. Nouvelle méthode de dosage des éléments minéraux fertilisants du sol par les Azotobacter. Plant Soil, 1951, vol. 3, No. 1, p. 41—46.
Wang T. P. and Lampen J. O. Metabolism of pyrimidines by a soil bacterium. J. biol. Chem., 1952, vol. 194, No. 2, p. 775—784.
Warcup J. H. Effect of partial sterilization by steam or formalin on the fungus flora of an old forest nursery soil. Trans. Brit. Mycol. Soc., 1951, vol. 34, part. 4, p. 519—532.
Warcup J. H. Soil-steaming: a selective method for the isolation of Ascomycetes from soil. Trans. Brit. Mycol. Soc., 1951. vol. 34, part 4, 515—518.
Warren J. R., Graham F. and Gale G. Dominance of an actinomycete in a soil microflora after 2,4-D treatment of plants. Phytopathology, 1951, vol. 41, No. 11, p. 1037—1038.
Webley D. M., Eastwood D. J. and Gimingham C. H. Development of a soil microflora in relation to plant succession on sand-dunes, including the «Rhizosphere» flora associated with colonising species. J. Ecol., 1952, vol. 40, No. 1, p. 168—178.
Wichtmann H. Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Azotobactergehalt und Bodenfruchtbarkeit. Arch. Mikrobiol., 1952, Bd. 17, No. 1, S. 54—78.
Wikén T. und Somm H. Atmungsversuche mit submersem Schüttelmyzel des Wurzelpilzes Mycelium Radicis atrovirens in der Apparatur nach von Euler, Myrbäck und Nilsson. Exper., 1952, Bd. 8, H. 4, S. 140—142.
Winter A. G. Untersuchungen über die Ökologie und den Massenwechsel bodenbewohnender mikroskopischer Pilze. Mitt. II. Der Einfluss organischer Nährstoffe auf die Entwicklung einiger Pilze (Cladosporium sp., Chaetomium sp.. Fusarium sp., Verticillium glaucum, Penicillium sp., Rhizoctonia solani u. a.) in naturlichen und partiell sterilisierten Böden. Arch. Mikrobiol., 1951 Bd. 16, H. 2, S. 136—162.
Zelitch I., Wilson F. W. and Burris R. H. The amino acid composition and distribution of N_{15} in soybean root nodules supplied N^{15} — enriched N_2. Plant Physiol., 1952, vol. 27, No. 1, p. 1—8.

б) Микробиология кормов

Man J. C. Influence of cruthing on the pH of grass silage. Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 4293, p. 246—247.
Olsen E. The fermentation of sugar beet pulp silage. J. gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 5, p. 817—829.
Sisley J. P. La conservation des corps gras alimentaires. Rev. Ferment. Indust. Aliment., 1950, vol. 5, No. 4, p. 126—135.
Suto H. Biochemical studies of silage. III. The process of fermentation and the change in the constituents during ensiling. J. Agric. Chem. Soc. Japan, 1951, vol. 24, No. 4, p. 171—176.

III. ПИЩЕВАЯ И ТЕХНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Andersen B. T. and Swaby R. J. Factors influencing the fungistatic action of 8-hydroxyquioline (oxine) and its metal complexes. Australian J. Sci. Res. B. Biol. Sci., 1951, vol. 4, No. 3, p. 275—282.
Andrews J. and Gilliland R. B. Super-attenuation of beer: a study of three organisms capable of causing abnormal attenuations. J. Inst. Brewing., 1952, vol. 58, No. 3, p. 189—196.
Appiling J. W., Ridenour N. J. und Buckman S. J. Pink slime in paper mills. Tappi, 1951, vol. 34, No. 6, p. 347—352.
Arrazola J. M. y Fernandez-Cano Ł. H. Posibilidad de fabricar levaduras prensadas sobre prehidrolizados de residuos agricolas. Microb. Espan., 1950, vol. 3, No. 2, p. 125—130.
Aubert J. P., Lemoigne M. et Millet J. La production d'alcool et le rendement de croissance de la levure de boulangerie cultivee en aérobiose. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 234, No. 1, p. 140—142.
Bannink H. F. and Muller F. M. On the utilization of waste liquors from the digestion of straw with monosulphite. Antonie van Leeuvenhoek, 1952, vol. 18, No. 1, p. 45—54.
Baribo L. E. and Foster E. M. The intracellular proteinases of certain organisms from cheese and their relationship to the proteinases in cheese. Exper., 1952, vol. 8, fasc. 3, p. 149—160.
Brunner R. J. and Mallmann W. L. Effectivenes of dehydroacetic acid as a mold inhibitor on butter and cheese surfaces. Michigan State Coll. Agric. Expt. Sta. Quart. Bull., 1950, vol. 33, No. 2, p. 127—142.
Bure J. Le controle des levures de panification françaises. Rev. Fermet. Indust. Aliment., 1950, vol. 5, No. 4, p. 111—120.
Calbert H. E. The problem of antibiotics in milk. J. Milk Food Technol., 1951, vol., 14, p. 61—64.
Castor J. G. B. and Guymon J. F. On the mechanism of formation of higher alcohols during alcoholic fermentation. Science, 1952, vol. 115, No. 2980, p. 147—149.
Charpentié Y., Ribéreau-Gayon J. et Peynaud E. Sur la fermentation de l'acide citrique par les bactéries malolactiques. Bull. Soc. Chim. biol., Paris, 1951, t. 33, No. 10, p. 1360—1376.
Corrosion of buried metals. Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 4291, p. 142—143.
Costilow R. N. and Speck M. L. Inhibitory effect of rancid milk on certain bacteria. J. Dairy Sci., 1951, vol. 34, No. 11, p. 1119—1127.
Costilow R. N. and Speck M. L. Inhibitation of Streptococcus lactis in milk by fatty acids. J. Dairy Sci., 1951, vol. 34, No. 11, p. 1104—1110.
DeBaun R. M. and Nord F. F. The resistance to cork of decay by wood-destroying molds. Arch. Bioch. Biophys., 1951, vol. 33, No. 2, p. 314—319.
DeMoss R. D., Bard R. C. and Gunsalus I. C. The mechanism of the heterolactic fermentation: a new route of ethanol formation. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 4, p. 499—511.
Elliker P. R., Smith V. H. Parker R. B. Controlling bacterial spoilage of cottage cheese. Milk plant monthly, 1951, vol. 40, No. 12, p. 24—26.
Еммануилов И. Бактерийните протеази и тяхното приложение в сиренарството. София, 1951, 17 стр. (Българска академия на науките. Микробиологически институт).
Enebo L. On three bacteria connected with thermophilic cellulose fermentation. Physiol. Plantarum, 1951, vol. 4, fasc. 4. 652—666.
Erdman I. E. and Thornton H. R. Psychrophilic bacteria in Edmonton milk and cream. I. Numbers. Canad. J. Technol., 1951, vol. 29, No. 5, p. 232—237.
Erdman I. E. and Thornton H. R. Psychrophilic bacteria in Edmonton milk and cream. II. Kinds. Canad. J. Technol., 1951, vol. 29, No. 5, p. 238—242.
Evans J. B. and Niven C. F. jr. Nutrition of the heterofermentative lactobacilli that cause greening of cured meat products. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 5, p. 599—603.
Fabian F. W. and Allen C. H. Aerobacter aerogenes as a cause of ropy brine in cucumber fermentation. Food. Res., 1951, vol. 16, No. 5, p. 446—447.

Friedmann R. and Epstein C. The assay of the antibiotic nisin by means of a reductase (resazurin) test. J. gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 5, p. 830—839.
Galesloot Th. E. Some aspect of the bacteriology of pasteurised milk. I. Thermoduric bacteria in Dutch raw milk. Nederlands Melk-en Zuiveltijaschrift, 1951, vol. 5, No. 2, p. 75—93.
Galesloot Th. E. Some aspect of the bacteriology of pasteurised milk. II. Investigations on the plate count of commercially pasteurised milk. Nederland. Melk- en Zuiveltijdschr., 1951, vol. 5, No. 2, p. 94—103.
Gilman H. L. and Marquardt J. G. The occurence and survival of Brucella abortus in Italian cheese curd made from raw and pasteurised milk. J. milk Food Technol., 1951, vol. 14, No. 2, p. 55—56, 60.
Greathouse G. A., Wessel C. J. and Shirk E. G. Microbiological deterioration of manufactured materials. Ann. rev. Microbiol., 1951, vol. 5, p. 333—358.
Gunsalus I. C. and Gibbs M. The heterolactic fermentation. II. Position of C^{14} in the products of glucose dissimilation by Leuconostoc mesenteroides. J. biol. Chem., 1952, vol. 194, No. 2, p. 871—876.
Hajny G. J., Gardner C. H. and Ritter G. J. Thermophilic fermentation of cellulosic and lignocellulosic materials. Indust. Engineer. Chem., 1951, vol. 43, No. 6, p. 1384—1389.
Havránek J. Kvasenie cukrov v sulfitových odpadných výluhoch. Chemické zvesti, 1951, R. 5, č. 1—2, 59—62.
Hellinger E., Avigan J. and Lewin M. Preliminary studies on flax retting in Israel. Bull. Res. Council Israel, 1951, vol. 1, No. 1—2, p. 149—151.
Heyn A. N. J. Studies on the microbiological retting process for the preparation of a hard fiber, and influence of this process on the fiber properties. Amsterdam, 1951, 50 p.
Hongô M. Butanol fermentation. I. The strain. 1. Monospore culture. J. Agric. Chem. Soc. Japan, 1951, vol. 24, No. 3, p. 119—125.
Hood E. G. and Smith K. N. Bacterial spoilage in process cheese. Sci. Agric., 1951, vol. 31, No. 12, p. 530—540.
Hromatka O., Ebner H. und Csoklich Ch. Untersuchungen über die Essiggärung. IV. Über den Einfluss einer vollständigen Unterbrechung der Belüftung auf die submerse Gärung. Enzymologia, 1951, vol. 15, fasc. 3, p. 134—153.
Hussel L. Ein Beitrag zur Verbesserung der mikroskopischen Untersuchung von Milch auf Tuberkelbakterien. Exper. Veterinärmedizin, 1951, Bd. 3, S. 18—26.
Isotalo A. Studies on the ecology and physiology of cellulose-decomposing bacteria in raised bogs. Acta Agralia Fennica, 1951, vol. 74, p. 1—106.
Jansen E. and Aschehous V. Bacillus as spoilage organisms in canned foods. Food Res., 1951, vol. 16, No. 6, p. 457—461.
Jones G. E. and Thomas S. B. The occurence of a Flavobacterium species in chilled water. Proc. Soc. appl. Bact., 1950, No. 1, p. 13—16.
Kadavy J. L. and Dack G. M. The effect of experimentally inocculation canned bread with spores of Clostridium botulinum and Bacillus mesentericus. Food. Res., 1951, vol. 16, No. 4, p. 328—337.
Kauffman J. Rôle des bactéries nitrifiantes dans l'altération des pierres calcaires des monuments. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 234, No. 24, p. 2395—2397.
Lacquet J., Richou R., Steeg L., Julienne P. et Gerbeaux C. Sur les caractères des microcoques de la flore normale de la mamelle de la vache. C. R. Acad. Sci. Paris, 1952. t. 234, No. 2, p. 255—257.
Leesment A. Streptobacterier i sveciaost. Svenska Mejeritidningen, 1951, vol. 43, No. 18, p. 205—208; No. 19, p. 217—219.
Levinson H. S., Mandels G. R. and Reese E. T. Products of enzymatic hydrolysis of cellulose and its derivatives. Arch. Biochem. Biophys., 1951, vol. 31, No. 3, p. 351—365.
Liebert J. L. Lactaatvergisting door coli-aerogenes-bacteriën. Nederland. Melk- en Zuiveltijdschr., 1951, vol. 5, No. 2, p. 118—124.
McKensie D. A., Druce R. G. and Lambert J. Routine resazurin test results and thermoduric bacterial content of milk samples as a measure of milk production conditions. Proc. Soc. appl. Bact., 1950, No. 1, p. 19—25.
Марков В. Микроорганизмите в биохимичната индустрия. София, 1951, 317 стр. (Българска акад. на науките. Микробиологически институт).
Marshall C. R. and Walkley V. T. Some aspects of microbiology applied to commercial apple juice production. II. Microbiological control of processing. Food Res., 1951, vol. 16, No. 6, p. 515—521.
Nambudripad V. K. N. and Iya K. K. Bactericidal efficiency of hydrogen peroxide. II. Influence of different concentrations of peroxide on the rate and extent of destruction of some more bacteria of dairy importance. Indian J. Dairy Sci., 1951, vol. 4, No. 2, p. 38—44.
Nebesky E. A., Esselen W. B. and Fellers C. R. Peroxidase inactivation in processed cucumber pickles. J. Milk Food Technol., 1951, vol. 14, No. 3, p. 103—104, 108.

Nutting L. A. and Carson S. E. Lactic acid fermentation of xylose by Escherichia coli. I. Fermentation studies. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 5, p. 575—580.
Nutting L. A. and Carson S. F. Lactic acid fermentation of xylose by Escherichia coli. II. Tracer studies: Evidence for $C_2 + C_1$ condensation. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 5, p. 581—589.
Owen W. L. Development of microorganisms during sugar manufacture. Significance relative to sucrose losses. Indust. Engineer. Chem., 1951, vol. 43, No. 3, p. 606—609.
Parisi P. Esperienze di produzione di formaggio „Grana" con latte di vacche alimentate con foraggi insilati. Ann. Microbiol., 1951, vol. 4, No. 516, p. 173—308.
Peel J. L. Ester formation by yeasts. 2. Formation of ethyl acetate by washed suspensions of Hansenula anomala. Biochem. J., 1951, vol. 49, No. 1, p. 62—67.
Pelczar M. J. and Brown J. H. Synthetic culture media for reference use in dairy bacteriology. J. Milk Food Technol., 1951, vol. 14, No. 3, p. 90—91, 97.
Pessin V. and Black L. A comparative study of six agars proposed for bacterial plate counts of milk. J. Milk Food Technol., 1951, vol. 14, No. 3, p. 98—102.
Pette J. W. and Lolkema H. Yoghurt. IV. Het evenwicht der bacterie soorten in yoghurt. Nederlands Melk — en Zuiveltijdschr., 1951, vol. 5, No. 1, p. 14—26.
Purko M., Nelson W. O. and. Wood W. A. The liberation of water-insoluble acids in cream by Geotrichum candidum. J. Dairy Sci., 1952, vol. 35, No. 4, p. 298—304.
Rayss T., Shulow A., Ingster J. et Sandovsky N. Étude préliminaire des champignons qui attaquent les toiles des tentes en Israel. Palest. J. Bot., 1950, vol. 5, No. 1, p. 56—69.
Reed J. M., Bohrer C. W. and Cameron E. J. Spore destruction rate studies on organisms of significance in the processing of canned foods. Food Res., 1951, vol. 16, No. 5, p. 383—408.
Ribéreau-Gayon J., Peynaud E. et Lafon M. Action d'un activeur de la fermentation alcoolique produit par Aspergillus niger sur le bilan des produits secondaires. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 234, No. 7, p. 757—759.
Ribéreau-Gayon J., Peynaud E. et Lafourcade S. Formation d'inhibiteurs et d'activeurs de la fermentation alcoolique par diverses moisissures. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 234, No. 2, p. 251—253.
Ribéreau-Gayon J., Peynaud E. et Lafourcade S. Sur la formation de substances inhibitrices de la fermentation par Botrytis cinerea. C. R. Acad., Sci., Paris, 1952, t. 234, No. 4, p. 478—480.
Rothstein A. and Berke H. Endegenous alcoholic fermentation in yeast induced by 2,4-dinitrophenol. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 36, No. 1, p. 195—201.
Ruyle E. H. and Sognefest P. Thermal resistance of a facultative aerobic sporeforming bacterium in evaporated milk. J. Milk Food Technol., 1951, vol. 14, No. 6, p. 173—175.
Schulze B. Untersuchungen über die Virulenz der für die Prüfung der pilzwidrigen Wirkung nach dem „Klötzchen-verfahren" benützten Normstämme. Phytopath. Z., 1950, Bd. 17, H. 2, S. 215—217.
Scott R. Penicillin and cheesemaking. Dairy Indust., 1951, vol. 16, No. 5, p. 440—443.
Shu P. and Thorn J. A. Carbon and oxidation-reduction balances and the estimation of fermentation efficiencies of aerobic fermentations. Canad. J. Bot., 1952, vol. 30, No. 2, p. 252—265.
Siu R. G. H. Microbial decomposition of cellulose. With special reference to cotton textiles. New York City, 1951, XI + 531 p.
Smythe C. V. The microbiological production of enzymes and their industrial applications. Econ. Bot., 1951, vol. 5, No. 2, p. 126—144.
Spruit C. J. P. and Wanklyn J. N. Iron/sulphide ratios in corrosion by sulphate-reducing bacteria. Nature, Lond., 1951, vol. 168, No. 4283, p. 951—952.
Станчев В. Нов метод за получаване на диастазен препарат за текстилната индустрия. Сталин, „Наука и искусство", 1950. 14 стр. (Отп. от Годишника за 1949—50 г. Държавен ун-т. Сталин. Фак-т за стопански и социални наук). Резюме на рус. яз.
Steinke P. K. W. and Foster E. M. Botulinum toxin formation in liver sausage. Food Res., 1951, vol. 16, p. 477—484.
Steinke P. K. W. and Foster E. M. Effect of temperature of storage on microbial changes in liver sausage and bologna. Food Res., 1951, vol. 16, No. 5, p. 372—376.
Straka R. P. and Combes F. M. The predominance of micrococci in the flora of experimental frozen turkey meat steaks. Food Res., 1951, vol. 16, No. 6, p. 492—493.
Thom Ch. Molds, mutants and monographers. Mycologia, 1952, vol. 44, No. 1, p. 61—85.
Thomas S. B., Egdell J. W., Clegg L. F. L. and Cuthbert W. A. Thermoduric organisms in milk. I. A review of the literature. Proc. Soc. appl. Bact., 1950, No. 1, p. 27—67.
Thomé K. E. Bonomold NE eventuellt ett nytt möglingshindrande medel för ost. Svenska Mejerritidningen, 1950, vol. 42, No. 50, p. 557—561.
Vaughn R. H. The microbiology of dehydrated vegetables. Food Res., 1951, vol. 16, No. 5, p. 429—438.

Verona O. Utilité d'une association de levures dans le processus de vinification. Ann. Inst. Pasteur, 1952, t. 82, No. 2, p. 245—246.
Wagenaar R. O. The bacteriology of surface-taint butter: a review. J. Dairy Sci., 1952, vol. 35, No. 5, p. 403—423.
Walker T. K. and Wiles A. E. Asporogenous film-forming yeasts occuring as contaminants of brewery yeasts and beers. J. Inst. Brew., 1952, vol. 58, No. 2, p. 140—145.
Wanklyn J. N. and Spruit C. J. P. Influence of sulphate-reducing bacteria on the corrosion potential of iron. Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 4309, p. 928—929.
Wiggins E. H., Mann P. F. E., Trevelyan W. E. and Harrison J. S. Effect of pH on the synthesis of cell carbohydrate during fermentation by baker's yeast. Biochim. Biophys. Acta, 1952 vol. 8, No. 5, p. 537—542.
Wiley A. J., Holderby J. M., Hughes L. P. and Inskeep G. C. Food yeast from sulfite liquors. Indust. Engineer Chem., 1951, vol. 43, No. 8, p. 1702—1711.
Wilkowske H. H. and Krienke W. H. Influence of penicillin in milk on total and coliform bacteria plate counts. J. Milk Food Technol., 1951, vol. 14, No. 3. p. 92—94.
Wilkowske H. H. and Krienke W. H. Influence of penicillin on the lactic acid production of certain lactobacillii. J. Dairy Sci., 1951, vol. 34, No. 10, p. 10—1033.
Wilson T. E. and McCleskey C. S. The effect of storage on indicator organisms in shucked oysters and a comparison of methods for the determination of enterococci. Food Res., 1951, vol. 16, No. 5, p. 377—382.
Wisniowski J. A slide culture method for the detection of the tubercle bacillus in milk. Med. Weterynaryjna, 1951, vol. 7, No. 11, p. 736—739.
Yuill J. L. Fermentations with mixed strains of Aspergillus niger. Biochem. J., 1951, vol. 48, No. 1, p. XIX.
Zaehringer M. V., Mayfield H. L. and Odland L. M. The effect of certain variations in fat, yeast, and liquid on the frozen storage of yeast doughs. Food Res., 1951, vol. 16, No. 4, p. 353—359.

IV. МИКРОБИОЛОГИЯ ВОЗДУХА, ВОДЫ, ЛЕЧЕБНЫХ ГРЯЗЕЙ И ГОРНЫХ ПОРОД

Campbell L. L. and Williams O. B. A study of chitin-decomposing microorganisms of marine origin. J. gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 5, p. 894—905.
Cohn Ch. Colorations d'Escherichia coli dans les eaux polluées, suivies de leur entraînement par les sols incolores de $Th(OH)_4$ ou de $Sn(OH)_4$. C. R. Soc. Biol., Paris, 1951, t. 145, No. 23—24, p. 1744—1746.
Dunlop S. G., Twedt R. M. and Wen-Lan L. W. Salmonella in irrigation water. Sewage and Indust. Wastes, 1951, vol. 23, No. 9, p. 1118—1122.
Gray E. The ecology of the bacteria of Hobson's Brook, a cambridgeshire chalk stream. J. gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 5, p. 840—859.
Gray E. The ecology of the ciliate fauna of Hobson's Brook, a cambridgesnire chalk stream. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 6, No. 1/2, p. 108—122.
Guélin A. Application de la recherche des bactériophages à l'étude des eaux polluées. I. La survie des entérobactériacées dans les eaux. II. Bactériophages des eaux à grandes et petites plages. Ann. Inst. Pasteur, 1952, t. 82, No. 1, p. 78—89.
Ketchum B. H., Ayers J. C. and Vaccaro R. F. Processes contributing to the decrease of coliform bacteria in a tidal estuary. Ecology, 1952, vol. 33, No. 2. p. 247—258.
Liddo S. Ricerche batteriologiche nell'aria delle Grotte di Castellana. (Contributo allo studia della microflora cavernicola). Boll. Soc. Ital. Biol. sperum., 1951, vol. 27, No. 3 bis. p. 496—498.
Mackenzie K. The metabolism of Vibrio desulfuricans in anaerobic petrolifererous formations. Biochem. J., 1952, vol. 51, No. 3, p. XXIV.
Nicol H. Sulphur from sea water. Nature, Lond., 1951, vol. 168, No. 4282, p. 894—895.
Spencer C. P. On the use of antibiotics for isolating bacteria-free cultures of marine phytoplankton organisms. J. Marine Biol. Assoc., 1952, vol. 31, No. 1, p. 97—106.
Wilson I. M. Notes on some marine fungi. Trans. Brit. Mycol. Soc., 1951, vol. 34, part 4, p. 540—543.
ZoBell C. E. Bacterial life at the bottom of the Phylippine Trench. Science, 1952. vol. 115, No. 2993, p. 507—508.

ХРОНИКА

VI МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС МИКРОБИОЛОГОВ В РИМЕ

6—12 сентября происходил очередной международный конгресс микробиологов. Для участия в работах конгресса из Советского Союза выехала делегация в нижеследующем составе:

1) Мишустина Евгения Николаевича, доктора биологических наук, заведующего отделом Института микробиологии АН СССР (руководитель);

2) Захаровой Маргариты Степановны, доктора медицинских наук, заведующей лабораторией Института микробиологии и эпидемиологии АМН СССР;

3) Иерусалимского Николая Димитриевича, доктора биологических наук, заместителя директора Института микробиологии АН СССР;

4) Бутрова Валерия Николаевича, заведующего отделом Министерства здравоохранения СССР (секретарь).

Члены делегации должны были сделать на конгрессе доклады и на основании заслушанных сообщений составить представление о достижениях в некоторых разделах микробиологии — общей, медицинской, технической и сельскохозяйственной.

Делегация ставила также своей задачей ознакомиться с работами ряда научных учреждений Италии и установить взаимосвязь с наиболее видными и прогрессивными микробиологами этой страны. Для более успешного выполнения данной задачи была одобрена поездка делегации советских микробиологов по Северной Италии.

В работе конгресса принимали участие делегаты примерно 40 стран. Их общее число приближалось к 2250.

С сожалением приходится констатировать, что ученые ряда стран народной демократии не получили возможности участвовать в работе конгресса, несмотря на то, что группа прогрессивных ученых Италии, входившая в состав оргкомитета, приложила значительные усилия для обеспечения их приезда. Из-за противодействия правительственных учреждений Италии делегации некоторых стран народной демократии совсем не могли быть приглашены, другие же прибыли на конгресс с опозданием. Так, китайской делегации Министерство иностранных дел Италии отказало в визе на въезд из-за того, что содержание представленных ими докладов якобы носило не научный, а политический характер. Польским и болгарским микробиологам такие претензии не были предъявлены, тем не менее болгарская делегация была задержана в Триесте на пять дней из-за преднамеренно длительной проверки въездных документов. В результате болгарские ученые приехали в Рим после закрытия конгресса. Из-за препятствий аналогичного порядка с опозданием прибыли польские и чехословацкие ученые. Венгрия, Румыния и Албания представителей на конгрессе не имели.

Показательными вообще являются ограничительные мероприятия итальянского правительства по отношению к гражданам СССР и стран народной демократии. Так, например, им разрешается свободное передвижение лишь в зоне 100 км вокруг Рима, более дальние поездки допускались только при получении особых разрешений.

Основная работа конгресса протекала на секциях, где заслушивались доклады, содержащие преимущественно оригинальный экспериментальный материал. Некоторые секции подразделялись еще на подсекции.

На так называемых «симпозиумах» зачитывались обзорные доклады, составленные в равной мере как на основе оригинальных данных, так и на анализе значительного литературного материала. Последнего рода сообщения были посвящены более крупным и завершенным исследованиям.

Для сообщения на секциях отводилось 15—20 минут, для докладов на симпозиумах около одного часа. Значительная часть докладов подвергалась обсуждению.

В общей сложности работа конгресса проходила в 32 отделениях, многие из которых работали одновременно. Всего было зачитано 1028 сообщений на секциях и 65 докладов на симпозиумах. Пленарные заседания состоялись лишь при открытии и закрытии конгресса.

В общем работа конгресса была организована четко, и это является несомненной заслугой его оргкомитета, состоявшего в основном из итальянских ученых.

На торжественном открытии конгресса 6. IX с приветственными речами от оргкомитета выступили профессора Фонсека, Пунтони и Биокка. Были заслушаны приветствия съезду от Пастеровского института, от итальянского правительства и городского магистрата.

Следует отметить, что некоторые советские микробиологи были утверждены Оргкомитетом конгресса руководителями его секций. Так А. А. Имшенецкий — президентом секции общей микробиологии, М. С. Захарова — вице-президентом секции генетики и В. В. Выгодчиков — вице-президентом секции иммунологии и иммунохимии.

Основная часть экспериментальных сообщений (около 60%) была посвящена вопросам медицинской микробиологии и вирусологии. Тематика этих сообщений может быть разбита на следующие группы:

Изучение отдельных возбудителей инфекционных заболеваний человека (бактерии, вирусы и т. д.) — около 280 докладов;
Патогенез, иммунитет и специфическая профилактика — около — 270 докладов;
Эпидемиология . . . . . около — 80 „

Большинство докладов по этим вопросам было представлено американской, французской и германской делегациями.

По вопросам общей микробиологии сделано 262 сообщения (около 25%):

Действие угнетающих факторов (антибиотиков, химикалий, температуры и пр.) на микроорганизмы . . . . . — около 20 %
Химия обмена веществ микробов . . . . . — около 80 „
Строение, рост и развитие микробов . . . — около 50 „
Методика исследования (микробиологическая техника) . . . . . — около 40 „
Генетика микробов . . . . . — около 40 „
Систематика микробов . . . . . — около 30 „

Таким образом, по этому разделу наибольшее внимание было уделено вопросам обмена веществ у микробов. В докладах заграничных ученых по генетике преобладали менделевско-морганистские концепции о наследственности.

По вопросам сельскохозяйственной, технической и морской микробиологии было сделано только 98 докладов (меньше 10%). Доклады по изысканию и изучению микробов, образующих антибиотики, были представлены очень слабо.

Члены советской делегации сделали на конгрессе следующие доклады:

М. С. Захарова — «Изменчивость патогенных бактерий»;

Н. Д. Иерусалимский — «Проблема стадийного развития микроорганизмов»;

Е. Н. Мишустин — «Закон зональности и микробное население почвы».

Кроме этого, были оглашены тексты следующих сообщений советских ученых, присланных на конгресс:

А. А. Имшенецкий — «Экспериментальная изменчивость микроорганизмов»;

Н. А. Красильников — «Взаимоотношение почвенных микробов с высшими растениями».

Были продемонстрированы также диапозитивы проф. М. Н. Мейселя, посвященные вопросу строения дрожжевой клетки. Доклады М. С. Захаровой, Н. Д. Иерусалимского и А. А. Имшенецкого, а также демонстрация материала М. Н. Мейселя состоялись на секции генетики микробов. Е. Н. Мишустин огласил свой доклад на агрономической секции, а доклад Н. А. Красильникова состоялся на секции антибиотиков. На доклады советских ученых было отведено от 30 до 50 минут, что значительно превышало установленный регламент.

Подводя итоги конгресса, можно сказать, что работа его в основном сосредоточилась на детализации уже известных фактов. Отмеченная выше многотемность вряд ли может быть признана обоснованной. Оргкомитету конгресса может быть сделан упрек в том, что заявки на доклады были механически собраны, а затем по формальным признакам распределены по секциям. На самом деле стоило ли ставить такие, более чем недостоверные доклады, как сообщение некоего де Сильва (остров Цейлон) о действии гипноза на бактерии, или доклад Социас и его сотрудников (Мадрид) о превращениях дрожжей и грибов в спороносные бактерии. Подобных сообщений было более чем достаточно. Наряду с этим было заслушано большое число интересных сообщений. Однако ни одно из них не открывало новой эпохи в микробиологии.

Как наиболее интересные могут быть отмечены следующие моменты:

1. Сообщены некоторые новые данные об условиях превращения бактерий в так называемые L-формы, отличающиеся от обычных клеток своей морфологией и биохимической активностью. Подобные формы могут иметь большое значение при изготовлении вакцин.

2. Уточнены отдельные стороны биохимизма обмена веществ у микробов, например, превращения аминокислот, биосинтеза и распада стеролов, процесса дыхания и т. д.

3. Сообщены новые детали ряда важных биохимических процессов, совершающихся в природе (усвоения молекулярного азота, денитрификации, хемосинтеза и т. д.).

4. Приведен ряд новых данных об условиях и способе действия химиотерапевтических средств и антибиотиков на патогенные микроорганизмы.

5. Сделаны сообщения об успешных попытках применения живых вакцин против вирусных заболеваний (бешенства, полимиэлита и риккетсиозов).

6. Доложены новые материалы о путях развития и жизнедеятельности вирусов и бактериофагов.

7. Показаны новые методы микробиологической работы (даны рекомендации приборов, новых питательных сред и т. д.).

Надо отметить, что многие из заслушанных на конгрессе докладов базировались на антинаучных концепциях вейсманизма-морганизма. В них говорилось, например, о «перекомбинации генов» у бактерий при половом процессе, хотя этот последний никем еще не был доказан. Безосновательно-спекулятивная трактовка наблюдавшихся фактов производила впечатление глубокого кризиса, переживаемого морганистской генетикой, в частности в микробиологии.

На конгрессе полностью отсутствовали доклады, связанные с приложением учения И. П. Павлова к иммунологии.

Таким образом, на конгрессе преобладали либо сообщения по мелким, частным вопросам, носившие сугубо эмпирический характер, либо же доклады, построенные на ошибочных метафизических предпосылках. Правда, фактический материал этих сообщений нередко представлял интерес.

В противоположность этому, доклады советской делегации имели характер научно-теоретических обобщений, причем в основу этих обобщений были положены принципы советской материалистической биологии. Неудивительно, что они привлекли внимание участников конгресса. Прогрессивная часть зарубежных ученых стремилась получить от советских делегатов руководящие указания, другие ученые пытались уяснить себе позиции советской науки, чтобы их принять, либо же выдвинуть против них возражения, третья часть ученых, враждебно относящихся к материализму, явно уклонялась от каких-либо дискуссий.

Существенным политическим итогом работ конгресса явилось единодушное принятие при его закрытии резолюции, призывающей людей науки использовать достижения науки в гуманных целях и соблюдать Женевскую конвенцию 1925 г. о запрещении применения бактериологического оружия.

Конгресс закрылся 12 сентября после отчетных докладов организационного комитета. На заключительном заседании был выбран новый организационный комитет Международной ассоциации микробиологов и текст исправленного устава этой ассоциации. На обязанности нового организационного комитета лежит работа по подготовке очередного конгресса микробиологов, определение места его проведения и решение некоторых текущих дел.

В состав вновь избранного комитета вошли:

Ф. Барнет (F. Burnet, Австралия) — президент; А. Майлс (A. Miles, Англия) — вице-президент; С. Мадд (C. Mudd, США) — вице-президент; Г. Пенсо (G. Penso, Италия) — генеральный секретарь; М. Вельч (M. Welch, Бельгия) — генеральный секретарь.

После завершения работ конгресса состоялся прием, на котором присутствовало значительное число участников конгресса. Небольшому числу делегаций, в том числе советской, было предоставлено слово, которое произнес руководитель делегации Е. Н. Мишустин. В его выступлении было отмечено то большое значение, которое наука занимает в развитии культуры и благосостояния советского общества, и указывалось на огромную роль обмена мнений в работе ученых и стремление советских ученых к широкому общению с прогрессивными научными работниками других стран. Было высказано мнение, что работа конгресса послужит делу прогресса и установлению научных и деловых связей между народами.

Слова советского делегата были встречены с одобрением.

Получив специальное разрешение от итальянского правительства, советская делегация совершила поездку по Северной Италии, посетив Милан, Турин, область Великих озер и Венецию. Как римские встречи с учеными, так и посещение научных учреждений других культурных центров Италии позволили нам создать четкое представление о научной жизни этой страны.

В подавляющем большинстве случаев мы встречали теплое отношение и радушный прием. Нам подробно рассказывали о проводимых исследованиях и полученных результатах. Нередко в лабораториях устраивались завтраки, позволявшие проводить беседы в непринужденной, товарищеской обстановке.

У нас создалось вполне определенное впечатление, что широкие массы трудящихся и интеллигенции Италии необычайно хорошо относятся к Советскому Союзу. Это отношение как бы еще резче подчеркивает антинародную политику находящейся сейчас у власти христианско-демократической партии. Внимание к советской делегации отражало также то огромное уважение к коммунистической партии, которое существует в Италии среди простых людей.

На науку в Италии в настоящее время ассигнуются более чем скромные суммы и сеть научно-исследовательских учреждений крайне слаба. Соответствующие исследования в области микробиологии проводятся в немногочисленных, но, впрочем, достаточно хорошо оборудованных институтах (как Высший институт здравоохранения г. Рима). В основном же исследовательская работа сосредоточена на кафедрах высших учебных заведений, штат которых, однако, весьма скуден. Кафедры нередко получают дотации на работу от правительства через специальный центр или непосредственно от промышленных предприятий, заключая с последними хозяйственные договоры.

Следует отметить, что при общей большой безработице в стране сейчас до 30 тысяч лиц с высшим образованием не находят себе применения. Они не работают совсем или заняты на случайной, подчас черной работе. Особенно плохо приходится биологам. Поэтому на биологические факультеты высших учебных заведений идет особенно мало студентов.

Бросается в глаза, что итальянские ученые крайне плохо информированы о научной работе, ведущейся в СССР. Подчас остаются неизвестными даже выдающиеся советские исследования. Советская литература поступает в научно-исследовательские институты и учебные заведения Италии крайне нерегулярно и подчас скрывается от читателей реакционными элементами государственного аппарата.

В беседах с советской делегацией итальянские ученые настойчиво ставили вопрос о коренном улучшении научной информации и организации обмена опытом между странами.

Необходимо отметить активную работу общества «Италия — СССР». Во время своего пребывания в Риме и при поездке по стране советская делегация была тесно связана с этим обществом. Состоялось несколько товарищеских встреч с членами общества, во время которых обсуждались вопросы, связанные с работой конгресса микробиологов.

Содействие местных отделений общества облегчило советской делегации ознакомление с научными учреждениями и достопримечательностями посещенных ею городов.

Работы конгресса микробиологов в достаточной мере широко освещались итальянской прессой. Статьи о конгрессе и снимки делегатов, в том числе советских, были помещены во всех газетах и журналах Италии.

Из Италии мы унесли добрую память о жизнерадостном, приветливом народе, живущем сейчас в обстановке крайней нужды и экономической разрухи.

Е. Н. Мишустин
Н. Д. Иерусалимский

СОДЕРЖАНИЕ

Экспериментальные статьи

В. А. Экзерцев и С. И. Кузнецов. Исследования микрофлоры нефтеносных месторождений второго Баку 3
Ек. Н. Бокова. Окисление этана и пропана некоторыми видами микобактерий 15
В. П. Израильский. Исследование изменений клубеньковых бактерий при росте их в фильтратах других бактерий 22
А. А. Имшенецкий и Л. И. Солнцева. Фильтрующиеся формы и изменчивость Bact. fluorescens liquefaciens 27
Е. С. Татаренко. Влияние света на развитие плесневых грибов 29
О. И. Пушкинская. К методике количественного учета микроорганизмов, способных разлагать клетчатку в почве 34
Б. Я. Танатин. Наличие азотобактера в некоторых необрабатываемых почвах Северного Таджикистана 37
Е. А. Ворошилова. Микрофлора ризосферы кок-сагыза 43
А. И. Жукова. Значение микроорганизмов в питании Nereis succinea Каспийского моря 46
Е. М. Крохин. Исследование количества сапрофитных бактерий в Дальнем озере 49
А. А. Имшенецкий и К. З. Перова. Активность дрожжей, адаптированных к антисептикам 53
А. Г. Забродский и Н. С. Кордюкова. Ускорение спиртового брожения продуктами разложения белков 57
В. А. Утенкова-Ранцан. О выходе спирта при дрожжевом брожении. III. Влияние условий брожения на баланс продуктов 64
Н. Н. Владимирская. Значение кислорода для прорастания покоящихся спорангиев Synchytrium endobioticum (Schilb.) Perc. 72
Л. А. Миронов. Применение горизонтальных замкнутых кювет для светофильтров люминесцентного микроскопа 76

Обзоры

Ю. И. Сорокин. Роль фосфорных соединений в биоэнергетике бактериального обмена 79

История отечественной науки

И. Л. Работнова. Материалы к истории развития технической микробиологии в СССР. Микробиология виноделия 99

Рефераты

Общая микробиология, морфология, физиология и биохимия 109

Критика и библиография

Е. Л. Рубан.—С. Н. Виноградский. Микробиология почвы (проблемы и методы) 115
Библиография 117

Хроника

Е. Н. Мишустин и Н. Д. Иерусалимский. VI Международный конгресс микробиологов в Риме 125

Т-00465 Подписано к печати 10/II 1954 г. Печ. лист. 10,96
Уч.-изд. л. 13,4 Формат бумаги 70×108¹/₁₆ Бум. л. 4 Тираж 6000 экз. Зак. 1974

2 я типография Издательства Академии наук СССР. Москва, Шубинский пер., 10

Цена 12 руб.